

# A SZÍVMŰKÖDÉST SZABÁLYOZÓ NEURONHÁLÓZAT SZERVEZŐDÉSE *HELIX POMATIA* L. (GASTROPODA) KÖZPONTI IDEGRENDSZERÉBEN

S.-RÓZSA KATALIN

MTA Biológiai Kutatóintézete, Tihany

Elemi jelenségek feltárásában a gerinctelen állatokból izolált szervek, idegsejtek, ideg- és izomrostok elvitathatatlan előnnyel rendelkeznek, s nem egy neurofiziológiai törvényszerűség felismerését e készítmények alkalmazásának köszönhetjük. A legismertebb példák közül elegendő *Loligo* óriás axonjára, Gastropodák nagyméretű neuronjaira vagy rákok izomrostjaira utalni. Az utóbbi években az elemi, membrán szinten zajló események vizsgálata mellett előtérbe került a kisszámú neuron-populációk, vagy egyszerű neuron hálózatok strukturális és funkcionális szerveződésének tanulmányozása. E vonatkozásban is a gerinctelen állatok központi idegrendszere szolgáltatott jól elemezhető modelleket (WIERSMA és IKEDA 1964, KANDEL és GARDNER 1972, SALÁNKI 1972, KOESTER és mtsai 1973, MULLONEY és SELVERSTON 1974 a, b, SELVERSTON és MULLONEY 1974, és mások), aholis a változások a neuron-hálózat minden egyes elemén nyomon követhetők, s az integratív folyamatok bizonyos szakaszai közvetlenül vizsgálhatók. Az elemi jelenségek tanulmányozásához viszonyítva a meghatározható számú neuront tartalmazó ideghálózat vizsgálata komplexebb szintet képvisel, s mintegy átmenetet jelent az összetettebb integratív tevékenységre épülő viselkedésvizsgálat és a sejt szintű neurofiziológiai kutatások között.

Neuroncsoportok integratív működése szabályozási funkciók vizsgálata révén ismerhető meg legjobban, s e szempontból valamely perifériás szerv működésének és központi szabályozásának tanulmányozása a legcélravezetőbb. Ilyen lehetőséget szolgáltat Gastropodákon a szívűködés extrakardiális szabályozása, ahol a központi idegrendszeri elemek vizsgálata sejt szinten valósítható meg. Az általunk tanulmányozott *Helix pomatia* központi idegrendszere is meghatározott számú óriás neuront tartalmaz, melyek az *Aplysia* és *Tritonia* óriás neuronjaihoz hasonlóan (TAUC 1967, 1971, KANDEL és GARDNER 1972) eltérő kémiai érzékenységgel (SALÁNKI 1968) és többféle poszt-szinaptikus potenciál generáló mechanizmussal rendelkeznek (SAKHAROV és SALÁNKI 1969). Korábbi vizsgálataink tisztázták *Helix* szívén a serkentő mediáció szerotoninerg jellegét (S.-RÓZSA és PERÉNYI 1966), valamint a szívizom potenciálgenerálásának sajátosságait (S.-RÓZSA és mtsai 1973). Ezen munkák

folytatásaként a szívből a központi idegrendszerbe futó szenzoros jelzések természetét, azok központi célsejtjeit és azt a neuron-populációt kezdtük identifikálni és jellemezni, mely a szív központi szabályozását ellátja. Célunk a szív-működéssel kapcsolatban álló neuronhálózat analízise volt, különös tekintettel a szívből (és kisebb mértékben más szervekből) érkező szenzoros bemenetek által létrehozott központi változásokra.

### Anyag és módszer

Vizsgálatainkat *Helix pomatia* L. éber egyedein végeztük, szobahőmérsékleten (20—22 °C), az év minden szakában. A téli időszakban hibernált állatokat kísérlet előtt néhány napig aktiváltuk, oly módon, hogy megfelelő hőmérséklet és nedvességtartalom mellett táplálékkal is elláttuk őket. Az ily módon aktivált csigák szív-működése egyenletes, és a szív fél-izolált állapotban hosszú ideig (24 óra) működtethető.

#### 1. A preparátum elkészítése és működtetése

A kísérletekben *Helix pomatia* agy—szív készítményét használtuk. Az állatok meszes héját eltávolítottuk, majd feltártuk a központi idegrendszert. A garatidegyűrűt sértetlenül szeparáltuk a környező szövetektől, miközben a viscerális ganglionból eredő intestinális ideg kivételével minden idegágat elvágtunk. Az intestinális ideget is megtisztítottuk a környező véredényektől, majd a szívhez menő ága kivételével minden oldalágát átmetsztettük.

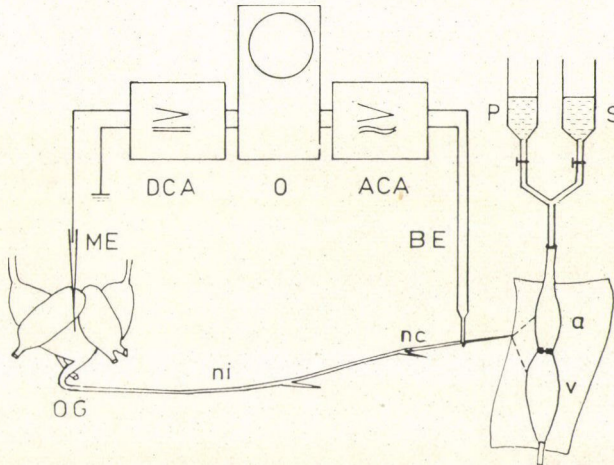
A szívet a perikardium megnyitásával szabaddá tettük, azután a véna pulmonálisba és az aorta legkezdeti szakaszába vékony kanült kötöttünk, s a szívet perfúzió alá helyeztük, ügyelve a nyomás állandóságára. A perfúzió feltételeit korábban részletesen leírtuk (S.-RÓZSA és GRAUL 1964).

A központi idegrendszert, intestinális ideget és szívet magába foglaló preparátumot speciális kamrába helyeztük, ahol a ganglion és szív között az összeköttetést csak az intestinális ideg biztosította, s a távolság a két szerv között 2,5—3 cm volt, az ideg hosszának megfelelően. A szívet és ideget a kiszáradástól fiziológiás oldattal óvtuk. Kísérleteinkben MENG-féle (1958) oldatot használtunk a preparátum tartására és a vizsgált anyagok oldására egyaránt. A preparátum elhelyezkedését és a kísérleti elrendezést az 1. ábra mutatja.

A szív kemoreceptorainak ingerlésére 5-hidroxitriptamint (5HT) alkalmaztunk. Az 5HT-t a fiziológiás oldattal azonos nyomással juttattuk a perfúzióba, elforgatható csap segítségével,  $10^{-8}$ — $10^{-3}$  M koncentrációban. A taktilis ingerlést a pitvar—kamra határán, vékony ecset szívfelszínhez történő érin-



tésével végeztük. A nyomásváltozás hatását külön kísérletekben, a perfúziós folyadékoszlop magasságának változtatásával vizsgáltuk. Az ozmoreceptorok ingerlésére 5% NaCl-t és glukózt használtunk.



1. ábra. Kísérleti elrendezés a szív és a központi idegrendszer kapcsolatának vizsgálatára. OG — garatalatti ganglionok; ni — intestinális ideg; nc — intestinális ideg szívhez menő ága; a — pitvar; v — szívkamra; ME — mikroelektróda; BE — bipoláris extracelluláris elektródák; P — fiziológias oldatot és S — anyagot tartalmazó perfúziós edény; DCA, ACA — erősítők; O — oszcilloszkóp

## 2. Az aktivitás regisztrálási módja

Az intestinális idegről bipoláris Ag—AgCl elektródákkal, extracellulárisan vezettünk el bioelektromos aktivitást, melynek frekvencia és amplitúdó változását kísértük nyomon a szív ingerlését követően. A központi idegrendszer sejtjeinek nyugalmi és akciós potenciálját 2,5 M KCl-dal töltött mikroelektródákkal vezettük el, melyek ellenállása a csúcsátmérőtől függően 5—15 MOhm között váltakozott. Az intracelluláris jelek erősítésére nagy bemenő ellenállású, negatív kapacitású erősítő szolgált (VÉRÓ 1971). A központi idegrendszer sejtjeit az erősítőbe beépített hídkapcsolás segítségével hiperpolarizálni és depolarizálni lehetett. A kísérletek egy részében az elektromos jelek erősítésére és regisztrálására ALVAR típusú erősítő, oszcilloszkóp és fotorekorder szolgált. Más esetekben, amikor az egysejt aktivitás és a szívideg aktivitása mellett a szív kontraktilis aktivitását is regisztráltuk, BOKOMB-5 készüléket használtunk, mely megfelelő előerősítőkkel és mozgásindikátorral ellátva módot adott az intracelluláris és extracelluláris idegaktivitás elvezetésére valamint a szív mozgásának egyidejű regisztrálására.



### 3. A központi neuronok identifikálása

A központi neuronok identifikálását fiziológiai mutatók alapján végeztük, majd a sejteket  $\text{CoCl}_2$ -dal történő intracelluláris festéssel azonosítottuk. Ez utóbbi eljárás során két úton juttattuk a  $\text{CoCl}_2$ -t a sejtbe: szomatikusan, amikor is az identifikált sejttest axonjának lefutását követtük nyomon, vagy axonálisan, amikor meghatározott rostokhoz tartozó sejttesteket festettünk a periféria felől. Az utóbbi eljárással jól jelölhető az adott idegbe direkt rostokat külfő szenzoros és motoros neuronok.

Az esetben, ha az identifikált neuronhoz tartozó axonok lefutását vizsgáltuk, az 1 M-os  $\text{CoCl}_2$ -dal töltött mikroelektrodákat a sejttestbe vittük be (PITMAN és mtsai 1972), és a kobaltot 30—60 percen át  $10^{-6}$ — $10^{-7}$  A áramerősséggel juttattuk a sejtbe, majd újabb 30 perc múltán a gangliont  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  10%-os oldatával kezeltük, ami a Co-tal fekete csapadékot ad. Ha azonban a szívideghez tartozó neuronokat kívántuk lokalizálni, akkor retrograd festési eljárást alkalmaztunk LEWIS és mtsai (1973) szerint. Ekkor a garat körüli gangliongyűrűt izoláltuk, miközben az idegeket a ganglionhoz közel átvágtuk, de a vizsgálni kívánt ideget kellő hosszúságban megtartottuk. A preparátumot két részből álló kamrába helyeztük. A gangliongyűrűt a fiziológiás oldattal töltött kamrába, míg a kiválasztott ideg végét az 1 M-os  $\text{CoCl}_2$ -dal töltött második kamrába süllyesztettük. Az ideg szabadon maradt, két kamra közötti részét vazelinnel fedtük, hogy a kiszáradástól megóvjuk. A készítményt nedves kamrában 48 órán át hűtőszekrényben (4—6 °C) tartottuk. Két nap múlva a preparátumot fiziológiás oldattal lemostuk, majd 5—10 percig 10%-os  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  oldattal kezeltük, mely a  $\text{CoCl}_2$ -ot felvett struktúrákban sötét kicsapódást eredményezett. A preparátumokat mindkét esetben megfelelő orientálás után kifeszített állapotban rögzítettük, majd növekvő alkohol soron való átvitelrel víztelenítettük és metilbenzoáttal derítettük, melynek eredményeként a megfestett sejtek nyúlványaikkal együtt jól azonosíthatók.

Az identifikált központi neuronokról sejtterképet készítettünk, s a sejtek elnevezésénél figyelembe vettük a korábbi vizsgálatok során kialakult nomenklatúrát (SAKHAROV és SALÁNKI 1969).

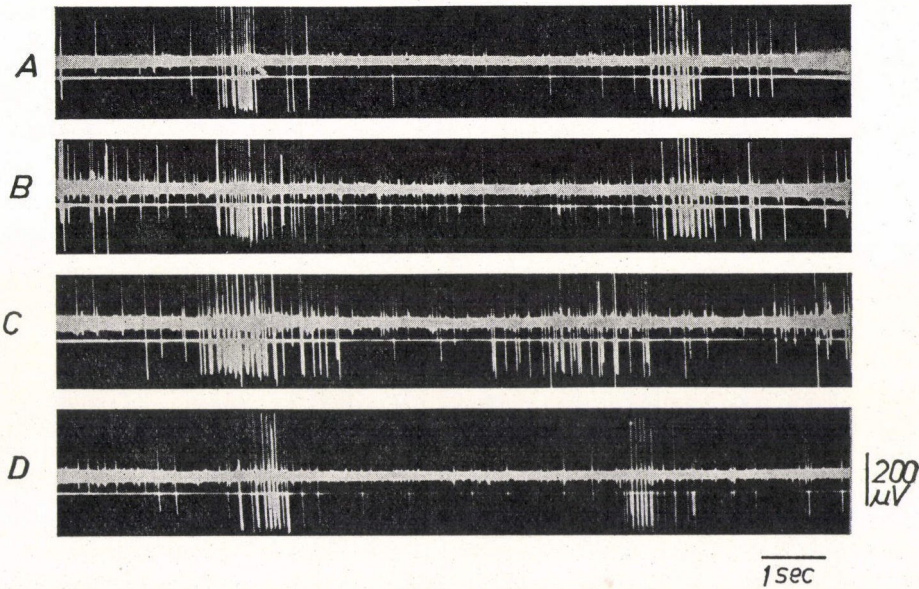
Minden sejt reakcióját több perifériás receptormező ingerlésekor (taktilis, kémiai) vizsgáltuk. A sejtek visszahatását a szív működésre a sejtmembrán depolarizálásával vagy hiperpolarizálásával biztosítottuk.

## Eredmények

### 1. A szív felvevő végkészülékeinek jellemzése

Az általunk kidolgozott, korábban részletesen leírt (S.-RÓZSA 1972) szív—szívideg—központi idegrendszer készítmény alkalmas a szív reflexogén zónáinak feltáráására Gastropodákon, s lehetővé teszi a különféle ingerek hatá-



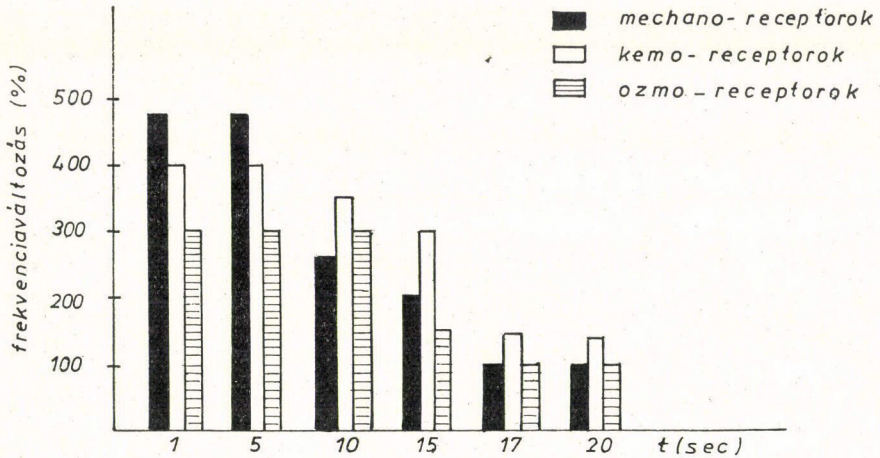


2. ábra. 5HT ( $10^{-7}$ M) szíven történő alkalmazásának hatása a szívideg afferens jelzéseire. A — kontroll B, C — 5HT ( $10^{-7}$ M) adása a szívre; D — 5HT hatásának kimosása

sára a központba jutó jelzések analízisét a szívidegen és a központi neuronok szintjén egyaránt. Vizsgálataink feltárták, hogy az intestinális ideg szívhez menő ágán kontroll körülmények között háromfajta, amplitúdóban jól elkülönülő aktivitás fut a központi idegrendszer felé (2. ábra). Az első csoportban az extracellulárisan elvezetett akciós potenciálok (AP) nagysága eléri a 450—500  $\mu$ V-ot, a második csoportban 300  $\mu$ V-ig terjed, míg a harmadik csoportban az AP amplitúdója mindössze 50  $\mu$ V. Egyes esetekben a szívideg aktivitása burst-szerű rendezettséget mutat (2. ábra). Kísérleteink szerint az 50  $\mu$ V nagyságú AP nem szív eredetű, hanem a perikardium preparátumon maradó részeiből származik.

Megállapítottuk, hogy a *Helix* szív érzékenyen reagál a szívfelszínért taktilis és kémiai ingerre, melyek hatására intenzív afferens jelzés indul a központi idegrendszer felé. Taktilis inger alkalmazásakor a szívidegen a 300—500  $\mu$ V nagyságú AP-k frekvenciája nő meg, míg a nyomásváltozás hatása csak a 450—500  $\mu$ V nagyságú AP-k frekvenciáját befolyásolja. Az ideg elektromos aktivitásában az ozmotikus nyomás változtatásakor elsősorban amplitúdó és kisebb fokú frekvencia növekedés észlelhető, de ez utóbbi növekedésének mértéke alacsonyabb a taktilis ingerre megfigyelt válasznál. A kémiai ingerként alkalmazott 5-hidroxitriptamin (5HT) ( $10^{-8}$ — $10^{-4}$  M) a taktilis ingerhez hasonlóan mindkét nagyságrendű AP frekvenciáját jelentősen növelte.





3. ábra. Adaptáció a szív mechano-, kemo- és ozmoreceptorainak ingerlése esetén. A diagrammok 5 kísérlet átlagának felelnek meg, a frekvenciaváltozást a kontroll %-ában tüntettük fel

A taktilis, ozmotikus, valamint 5HT effektus időbeli lefutását a 3. ábra összegzi. A maximálisan kiváltható frekvencianövekedés taktilis inger alkalmazása esetén volt a legnagyobb, ezt követte a kemoreceptorok, majd ozmoreceptorok ingerlése. Az adaptáció előrehaladásával a válasz intenzitása mérséklődik, mechano- és ozmoreceptorok ingerlésekor gyorsabban, míg a kemoreceptorok érzékenysége csak lassan csökken. 5HT alkalmazásakor még 3–5 perces kezelés után is megnövekedett afferens impulzáció figyelhető meg, amely csak hosszas mosás után szűnik meg. A nyomás változtatáshoz a szív gyorsan adaptálódik, ellentétben a fenti három ingerféleséggel. Az eredmények legalább két eltérő felvevő végkészülék jelenlétére utalnak *Helix* szívében.

Az eredmények igazolták, hogy Gastropodák szív működésének szabályozása fejlett afferens jelzésre épül. E jelzések közlik a központi idegrendszerrel a szív környezetében létrejött változásokat, melyek birtokában az az új helyzetnek megfelelően modulálja a szív működését. E szabályozókör perifériás részén a felvevő és továbbító elemek ugyanazon működési egységeit találjuk, mint magasabb rendűekben.

## 2. Központi idegrendszeri neuronok válaszreakciói a szív mechano- és kemoreceptorainak ingerlésekor *Helix pomatián*

Gastropodák központi idegrendszerének viszonylag egyszerűbb felépítése lehetővé teszi, hogy a perifériáról befutó jelzéseket ne csak az idegeken, hanem egyetlen sejt szintjén is azonosítani tudjuk. Ez egyben módot ad e



szerv, illetve szervrendszer (szív, cardio-renális rendszer) központi képviselőjét ellátó neuronhálózat kísérletes úton történő identifikálására is.

Mindenekelőtt a szív taktilis és kemoreceptorainak célsejtjeit azonosítottuk a központi idegrendszerben. E vizsgálatok során a központi neuron intracelluláris és a szívideg extracelluláris aktivitását szinkron regisztráltuk (S.-RÓZSA és SALÁNKI 1973). E vizsgálatok során azt kívántuk tisztázni, hogy fiziológiai módszerekkel azonosíthatók-e olyan sejtek a központi idegrendszerben, melyek a szívet ért hatásokra specifikusan reagálnak; továbbá, hogy ugyanazon befolyásolt központi neuron miképpen reagál eltérő ingerféslesek alkalmazására.

#### a) *Taktilis ingerlésre reagáló központi neuronok*

Taktilis inger központi neuronokra kifejtett hatását mintegy 50 preparátumon, összesen 140 neuronon vizsgáltuk, főként a viscerális és a jobb parietális ganglionokban. Közülük 20 biztosan különböző sejtet találtunk, melyek aktivitását a szív taktilis ingerlése befolyásolta. Találtunk olyan sejteket is, melyek nemcsak válaszoltak a szív ingerlésére, de kisülésük a szívidegről is elvezethető volt. A fentiek közül néhány sejt lokalizációja olyan, hogy a választípus alapján több preparátumon is azonosítani lehet. A taktilis ingerre választ adó sejtek megközelítő elhelyezkedését a 4. ábra mutatja.

A sejtek többsége a vizsgálat körülményei között spontán aktivitást mutatott, potenciálgenerálásuk pacemaker jellegű vagy vezérelt volt. Néhány olyan sejtet is vizsgáltunk, melyek spontán aktivitást nem mutattak (hallgatólagos sejtek).

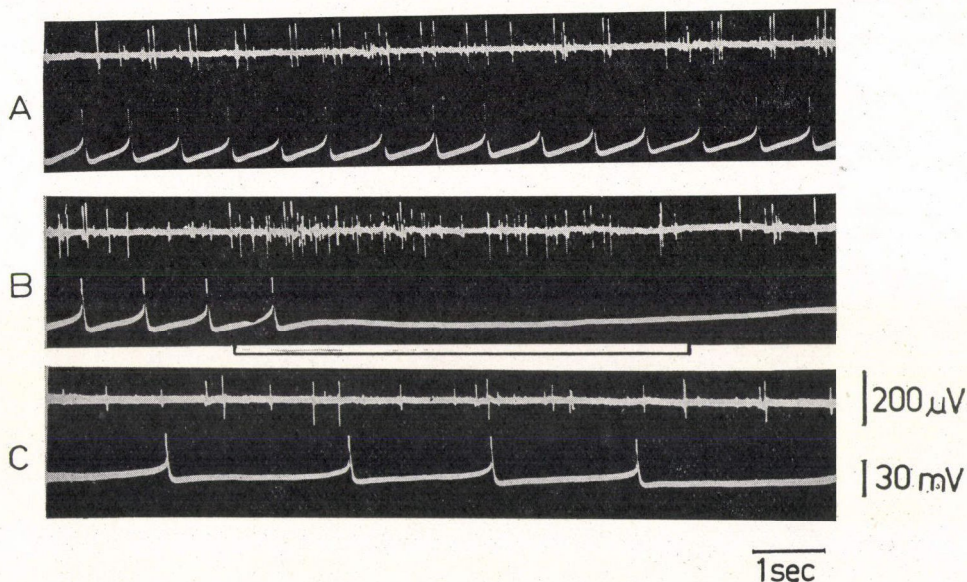
A szív ingerlésére alapvetően két választípust lehetett elkülöníteni:

*Gátolt sejtek:* ezek aktivitását a szív taktilis ingerlése időlegesen gátolta. Egyes esetekben a gátlás a spike generálás frekvenciájának csökkenésében nyilvánult meg, máskor az AP generálás teljesen megszűnt. Ilyen sejtek a viscerális ganglionban és a jobb parietális ganglionnak az intestinális ideghez közelebb eső részén fordultak elő. A viscerális ganglion középső részén elhelyezkedő V7 sejt aktivitása pacemaker típusúnak tűnt (5. ábra: A). Az aktivitás a szív ingerlésekor megszűnt és a membrán kismérvű, átmeneti hiperpolarizációja is észlelhető volt (5. ábra: B). További vizsgálatok során azonban kiderült, hogy a V7 sejt nem valódi pacemaker, mivel többszöri depolarizálás és hiperpolarizálás után a sejten megjelentek, majd gyakorivá váltak a szinaptikus potenciálok és az ilyenkor alkalmazott szívingerlés gátló posztzinaptikus potenciálok (GPSP) közbeiktatásával vezetett a sejtaktivitás megszűnéséhez (6. ábra: C). Egy, a jobb parietális ganglionban elhelyezkedő gátló sejt (RPa3) viszont valódi pacemaker, amit a gátló fázisban is megmaradó membrán oszcilláció is igazol (7. ábra: B). Taktilis ingerre gátlással reagáló sejtek voltak még: V8, V9, V10, V13, V19, RPa6, RPa7, RPa8, RPa9.

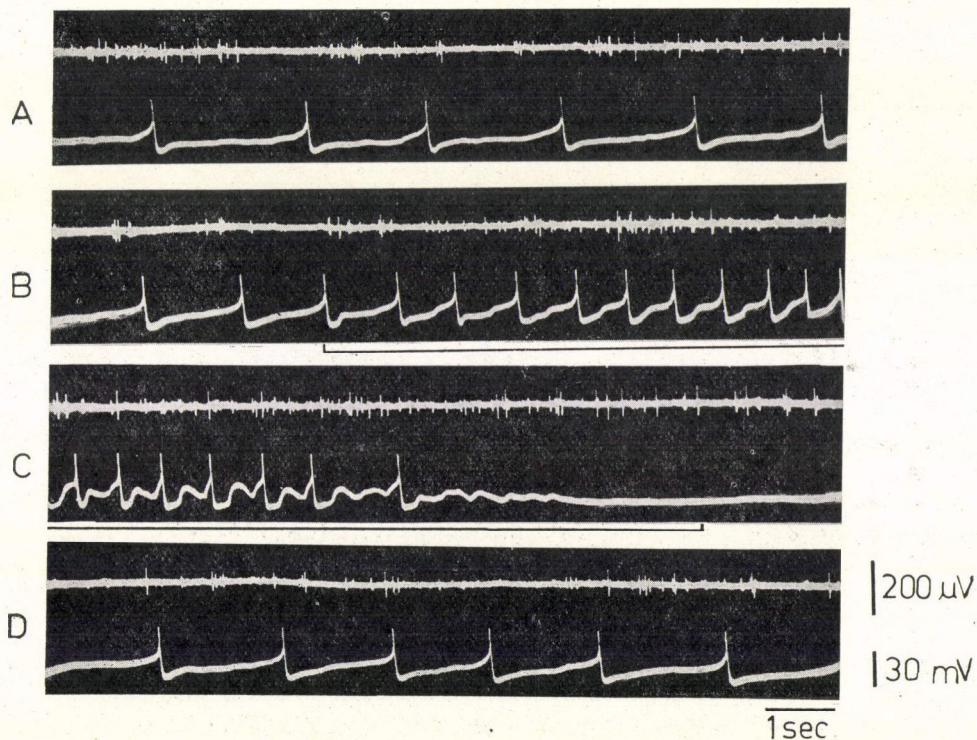






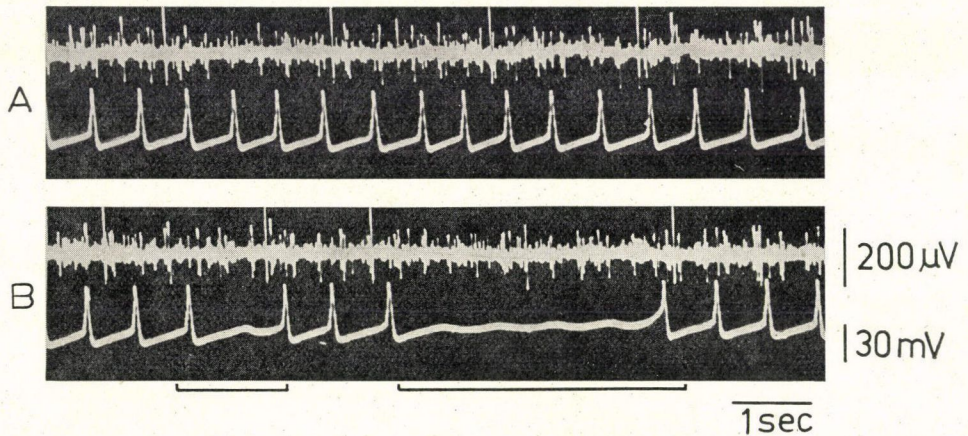


5. ábra. A viscerális ganglion középső részén elhelyezkedő V7 sejt válasza a szív taktilis ingerlésére. A — kontroll; B — a szív taktilis ingerlésének hatása; C — ingerlés után. Itt és minden további ábrán, *fenn*: az intestinális ideg extracellulárisan regisztrált aktivitása; *lenn*: az adott sejt intracellulárisan regisztrált aktivitása. Az ábrákon a vízszintes fekete vonal az ingerlés időtartamát jelöli



6. ábra. A V7 sejten többszörös depolarizálás és hiperpolarizálás után megjelenő SPSP-k és GPSP-k. A — kontroll; B, C — a szív taktilis ingerlése; D — ingerlés után



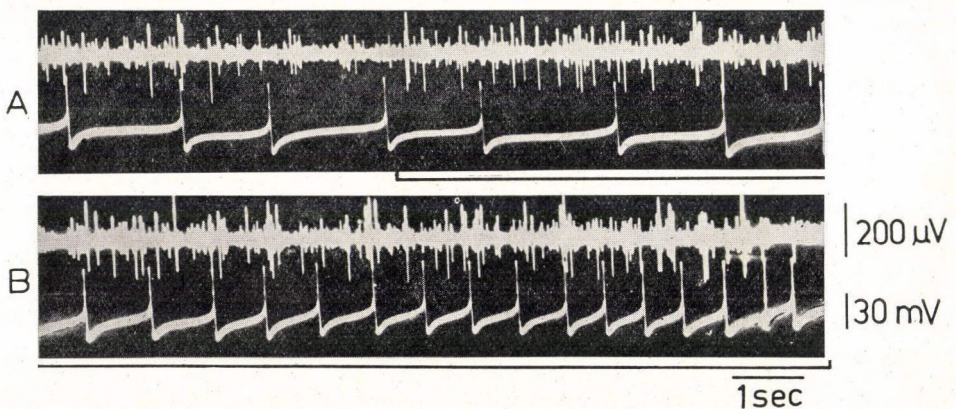


7. ábra. A jobb parietális ganglion egy sejtjének (RPa3) válasza a szív mechanikai ingerlésére. A — kontroll; B — a RPa3 sejt gátlása a szív taktilis ingerlésének idején

b) *A szív kemoreceptorainak ingerlésére válaszoló központi neuronok*

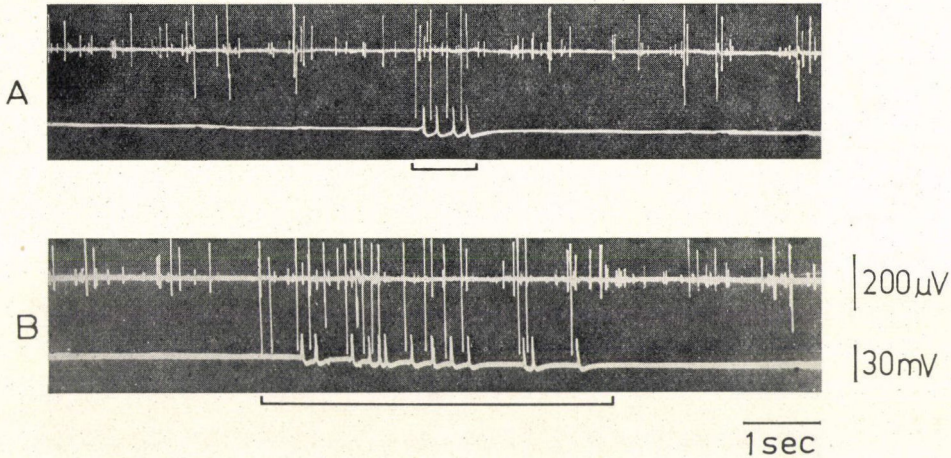
50 preparátum 150 központi idegrendszeri sejtjének válaszát vizsgáltuk a szív 5HT-vel történő ingerlésekor. A szív kemoreceptorainak 5HT-vel történő ingerlésére reagáló és egymástól biztosan különböző neuronok elnevezése és megközelítő elhelyezkedése a 10. ábrán látható.

*Aktivításcsökkenéssel reagáló neuronok:* öt sejt aktivitása az intrakardiálisan adott 5HT hatására csökkent. Ezek a V7, V14, V18, V19 és RPa8 elnevezésű neuronok. A szívidegen befutó megnövekedett afferens impulzáció hatására fellépő gátlás a sejt kisülések ritkulásában jelentkezik, vagy a sejt AP generálása megszűnik. GPSP-eket a sejtekről általában nem sikerült elvezetni,



8. ábra. A V17 sejt aktivitásának növekedése a szív taktilis ingerlésének hatására. A — kontroll; B — a neuron válasza a megnövekedett afferens impulzációra





9. ábra. Egy hallgatag sejt (RPa4) reakciója a szív taktilis ingerlésére. A vízszintes vonal az ingerlés időtartama

s a gátlás megszűnését nem követte megnövekedett aktivitás. A 11. ábrán bemutatott V7 sejt aktivitását az intrakardiálisan adott 5HT gátolta, majd a helyreállítódás során az eredeti frekvencia fokozatosan visszatért.

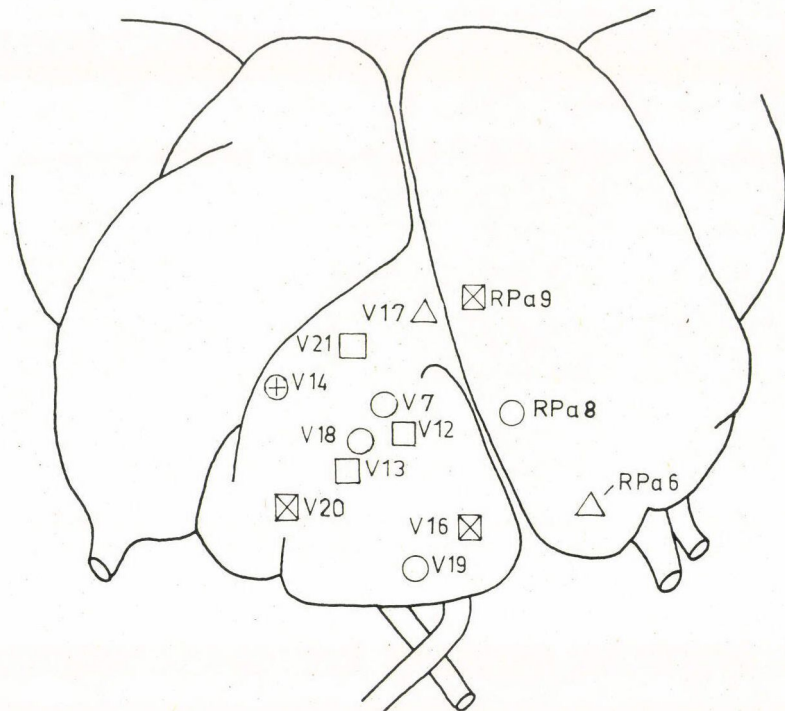
*Aktivitásfokozódással reagáló neuronok:* a szív kemoreceptorait 5HT-vel ingerelve a V13, V16, V20, V21 és RPa9 sejtek aktivitása fokozódott. Ezt megelőzően a szívből a központi idegrendszer felé haladó afferens impulzáció jelentősen megnőtt (12. ábra: B, C). E sejteken az aktivitás fokozódása mindaddig fennállt, amíg az 5HT eltávolításra nem került a szívből és az afferens impulzáció is kontroll szintre nem csökkent.

A V13 sejt aktivitása ezen túlmenően szoros korrelációban van a szív-idegről regisztrálható impulzáció egyik nagy komponensével (13. ábra). Mint-hogy az intracelluláris jel megelőzi az extracellulárist, utóbbi minden valószínűség szerint efferens jelzésnek tekinthető, ami a sejt kisüléseinek eredményeként a szív felé halad. E feltételezést az is alátámasztja, hogy a sejt depolarizálása esetén is szoros korreláció van e két jel között.

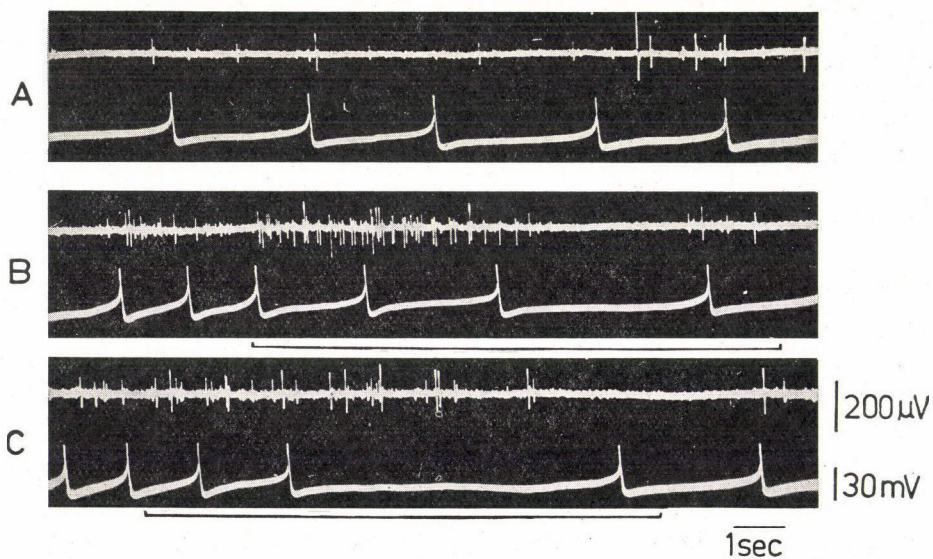
A 12. ábrán látható, hogy a szív kemoreceptorai nem egyidejűleg jutnak ingerületbe az 5HT hatására, hanem kezdetben ritkább jelzés halad a központi idegrendszer felé és az 5HT kimosódása sem egyszerre, hanem folyamatosan történik, s ennek megfelelően csökken az intestinális ideg aktivitása. A V13 sejt kisülése mindaddig frekvensebb marad, amíg az intestinális ideg aktivitása meghaladja a kontroll értékét (13. ábra). A V21 sejt aktivitásfokozódása működésmód változást jelentett, vagyis fázisos működése tónusossá vált a szívből érkező jelzések hatására.

Az esetek többségében a szív kemoreceptorainak ingerlésére fokozódó aktivitással reagáló sejteken sem lehetett SPSP-eket kimutatni.



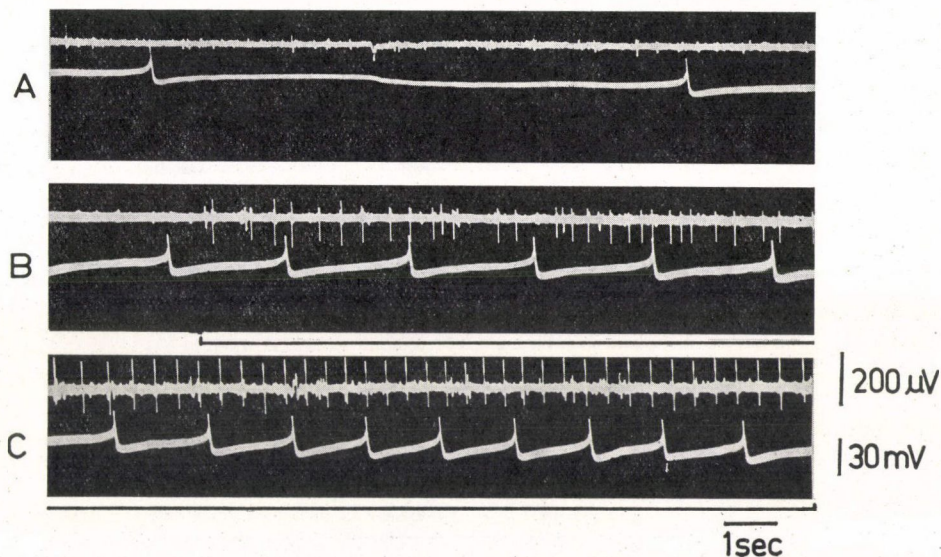


10. ábra. A szív 5HT-vel történő ingerlésekor reagáló neuronok lokalizációja és reakciótípusa *Helix pomatia* központi idegrendszerében. Jelölés mint a 4. ábrán



11. ábra. A V7 neuron válasza a szív kémiai ingerlésére. A — kontroll; B, C — a szív kemo-receptorainak folyamatos ingerlésekor fellépő gátló válasz





12. ábra. A V16 neuron válaszreakciója a szív kémiai ingerlésére. A — kontroll; B, C — a szív ingerlésére a V16 sejt aktivitásfokozódással reagál

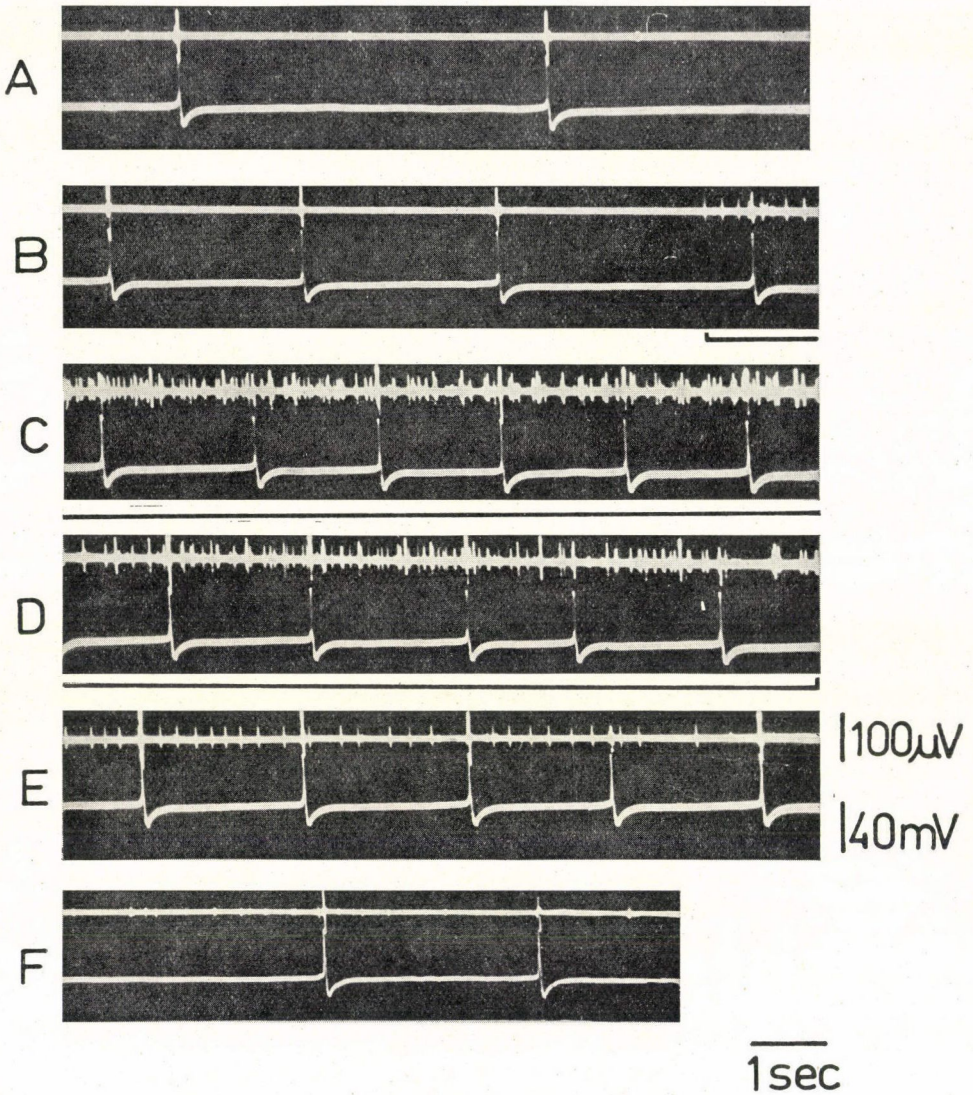
### c) Kétfázisú választ adó neuronok

Találtunk olyan sejteket, melyek a szív kemoreceptorainak ingerlésére kétfázisú választ adtak. A V12, V17 és RPa6 neuronok aktivitásának frekvenciája az 5HT hatására kezdetben növekedett, majd gátlódott. A V17 neuron reakciója a 14. ábrán látható.

Az 5HT szívreceptorokra való hatása következtében az idegen haladó afferens impulzáció frekvenciája és amplitúdója megnő és ezt követően a V17 sejt akciós potenciáljainak frekvenciája is csaknem kétszeresére fokozódik (14. ábra: B). Azonban két perc múlva a sejt depolarizálódva majd hiperpolarizálódva gátlódik és egyidejűleg az idegről elvezetett impulzus-sorban is csökken a nagy amplitúdójú potenciálok frekvenciája (14. ábra: C). A gátlási fázisból kikerülve a sejt a kontrollhoz képest újra megnövekedett aktivitást mutat (14. ábra: D). Az 5HT kimosása után viszont a V17 neuron a kontrollnál is alacsonyabb aktivitással működik (14. ábra: E). Ez a választípus ismételt 5HT adáskor újra és újra megjelenik, csaknem azonos időlefutással.

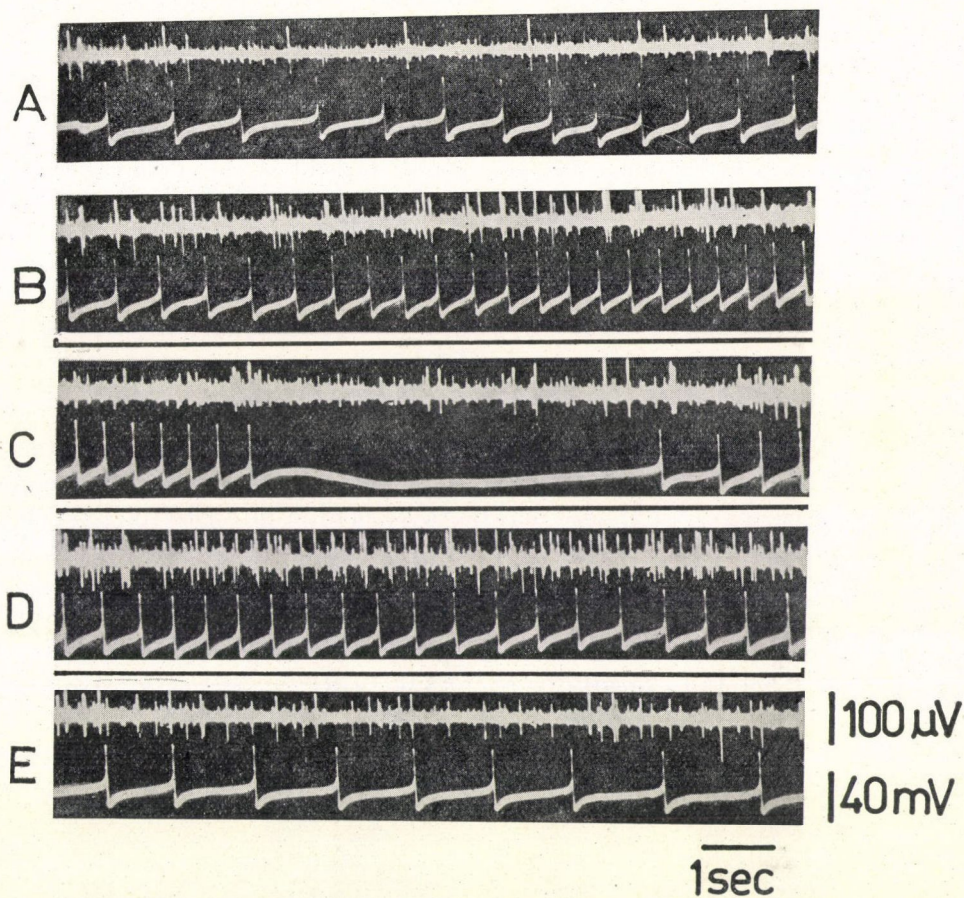
A V12 sejt hasonló módon reagált, mint a V17 sejt, de ez esetben az akciós potenciálok kezdeti frekvencianövekedése a szív kemoreceptorainak ingerlésekor viszonylag rövid ideig tart (15. ábra: B), illetve aktivitásnövekedés és csökkenés váltakoznak egymással (15. ábra: C). Ez a csaknem burst-szerű potenciálgenerálás az 5HT kimosásának idején is megmarad. Egyes esetekben kemoreceptorok ingerlésekor a gátló fázisban GPSP-k jelentek meg, ami a spike generálás gátlásának okozója lehet (15. ábra: C). Hasonló posztszinaptikus potenciálok a V12 sejten a szív taktilis ingerlésekor nem voltak megfigyel-



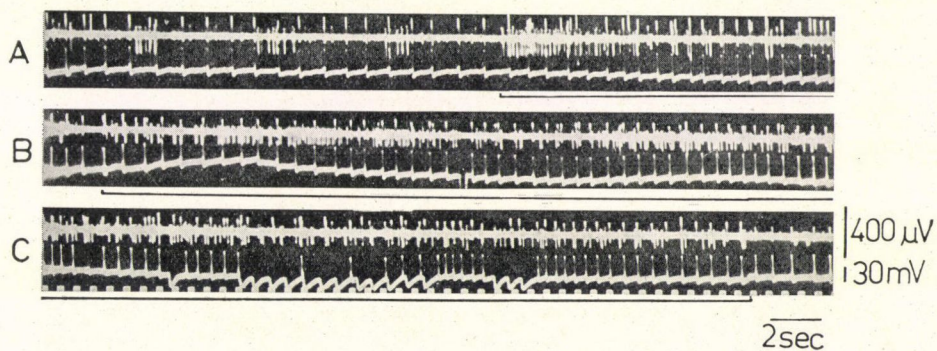


13. ábra. A VI3 sejt válasza a szív 5HT-vel történő ingerlésére. A, B — kontroll, majd az ingerlés kezdete; C, D — 1 perccel a kemoreceptorok ingerlésének megkezdése után (folyamatos regisztrálás); E, F — ua. 3 perc múlva, majd kimosás. Látható, hogy az intracelluláris jelet az extracellulárisan regisztrált aktivitásban egy többhullámú komponens kíséri





14. ábra. A V17 neuron válasza a szív 5HT-vel történő ingerlésére. A — kontroll; B, C, D — a szív kemoreceptorainak ingerlése (folyamatos regisztrálás); E — 5HT kimosása után



15. ábra. A V12 neuron válaszáának két fázisa az esetben, amikor a szív kémiai ingerlése után a gátló fázisban GPSP-k regisztrálhatók. A — kontroll és a szív taktilis ingerlésének hatása; B — a szív kémiai ingerlését követő serkentő fázis a sejten; C — a szív kémiai ingerlését követő gátló fázis



hetők (15. ábra: A). A V12 sejt esetén is szoros korreláció van az egyik extracelluláris jel és az akciós potenciál között.

Kemoreceptorok ingerlésekor a RPa6 sejten a kezdeti serkentést ugyancsak a potenciálgenerálás gátlása követte. A neuron kisülései az extracelluláris elvezetésben nem voltak kimutathatók, a gátló fázis idején azonban ez esetben is csökkent az extracellulárisan regisztrált aktivitás. A sejt kapcsolata tehát nem egy bizonyos komponenssel, hanem a szív felé haladó több más rost aktivitásával áll fenn. E sejt potenciálgenerálásának SPSP-kal való összefüggése igen kifejezett volt.

#### d) Ugyanazon központi neuronok válasza a szív kemo- és taktilis ingerlésére

A szív kémiai ingerlésére válaszoló neuronok reakcióit taktilis ingerlés-kor megfigyelt válaszokkal vetettük össze annak eldöntésére, hogy mennyire specifikus a szívét ért különböző hatásokra központba jutó jelzés képviselete. Az összesítést az I. táblázat tartalmazza.

Az I. táblázatból látható, hogy csak két olyan sejtet találtunk, mely csak az egyik ingerfélésegre válaszolt. Ezek közül a V8 csak taktilis, a V14 pedig csak kémiai ingerre adott választ. A V13, V18 és RPa8 sejt ellentétesen reagált a szív kémiai és taktilis ingerlésére. A V13 és az RPa9 aktivitása fokozódott a szív kémiai ingerlésekor, míg taktilis ingerlésre gátlódott. A V18 sejt ezzel ellentétes válaszokat mutatott. A V17 sejt mindkét ingerfélésegre, a V12 és

### I. Táblázat

A központi idegrendszer azonos neuronjainak válaszreakciója a szív kémiai és taktilis ingerlésére

Neuron	Kémiai inger	Taktilis inger
V7	—	—
V8	0	—
V12	+, —	+
V13	+	—
V14	—	0
V16	+	+
V17	+, —	+, —
V18	—	+
V19	—	—
V20	+	+
V21	+	+
RPa6	+, —	—
RPa8	—	—
RPa9	+	—

+ serkentés  
— gátlás  
0 hatástalan



RPa6 neuron a kémiai ingerlésre bifázisos választ adott, amikor kezdetben megnövekedett, majd csökkent, vagy megszűnt a sejt aktivitása.

A taktilis inger a V12 sejten csak serkentést, az RPa6 neuronon csak gátlást eredményezett, itt azonban figyelembe kell venni, hogy a taktilis ingerlés viszonylag rövid, a kémiai pedig mindig aránylag hosszú ideig tartott. A V7, V19 és RPa8 jelzésű neuron gátlás alá került, a V16-os pedig aktivitásfokozó-dással válaszolt mind a szív kemoreceptorainak, mind a szív mechanoreceptorainak ingerlésekor.

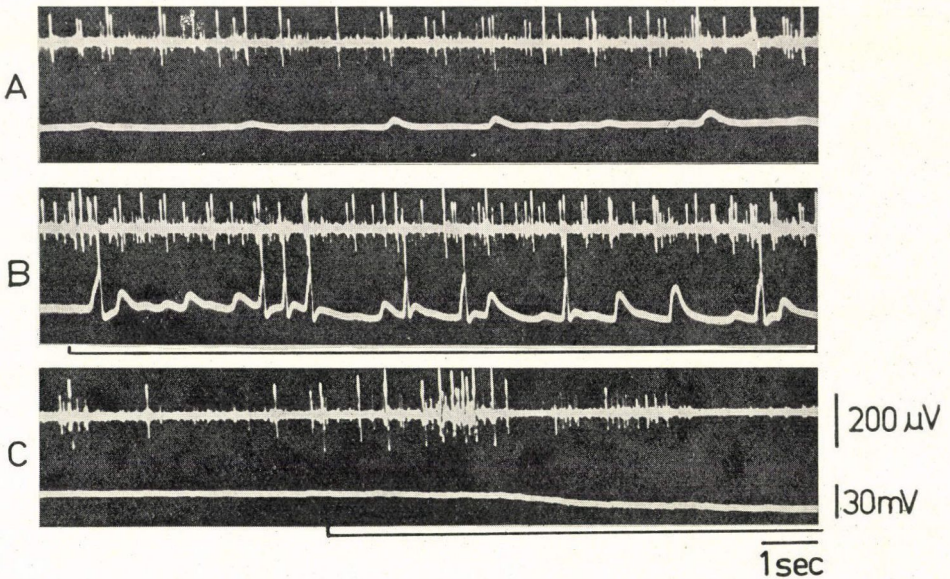
### 3. *Posztszinaptikus potenciálok központi neuronokon a szív-receptorok ingerlésekor*

Figyelmet érdemel az a tapasztalat, hogy viszonylag ritkán lehetett posztszinaptikus potenciálok (PSP) regisztrálni a szív-receptorokkal kapcsolatot mutató neuronok szómájából. Nyugalomban csak az RPa6-os, illetve a V20 és V21 sejtől regisztráltunk SPSP-ket nagyobb számban, és a V7 sejt volt az, melyen többszöri depolarizáció és repolarizáció után GPSP-k voltak kimutathatók.

Két sejten azonban, melyeken a szív kémiai és taktilis ingerlése ellentétes hatást váltott ki az afferens bemenet fokozódásakor, PSP-k is megjelentek, ill. a hatás nyilvánvalóan PSP-k közvetítésével realizálódott. A V12 sejten a szív 5HT-al történt ingerlésének első, serkentő fázisában depolarizáció észlelhető, PSP-k jelenléte nélkül (15. ábra: B), a második, gátló fázisban azonban a potenciálgenerálódás szünetelése GPSP-k megjelenésével kapcsolatos (15. ábra: C). A V12 sejten az aktivitásfokozódás taktilis ingerlésekor is SPSP-k nélkül lép fel. A V18-as sejten a szív taktilis ingerlése vezetett SPSP-k megszorodásához és aktivitásfokozódáshoz (16. ábra: B). Ezen a sejten a kemoreceptorok ingerlésekor bekövetkező gátlás nem jár együtt GPSP-k megjelenésével, azonban az SPSP-k amplitúdója radikálisan csökken és a sejt hiperpolarizálódik (16. ábra: C). A V20 és V21 sejteken volt még gyakori a posztszinaptikus potenciálok megjelenése, ahol az aktivált bemenetek jellegétől függően GPSP és SPSP egyaránt kimutatható volt (23. ábra). Jóllehet PSP-ket csak ritkán regisztráltunk, mégis ezek az esetek azt mutatják, hogy a szívből érkező hatások intenzív szinaptikus befolyást jelentenek a neuronokra. Valószínű, hogy a potenciálgenerálás befolyásolása a többi esetben is szinaptikus potenciálok révén valósul meg. Azonban a szómából történő intracelluláris regisztrálás azok észlelését nem mindig teszi lehetővé.

Kísérleteink bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy a szív taktilis és kémiai ingerlése által kiváltott centripetális impulzáció viszonylag nagyszámú neuronra van hatással, és idézi elő a sejtaktivitás megváltozását. A sejtek spike generálása vagy serkentése az esetek egy részében az intracelluláris regisztráláskor észlelhető SPSP-k vagy GPSP-k révén történik, más esetekben azonban a hatás során nem észleltünk szinaptikus potenciálokat.





16. ábra. A V18 sejt válasza a szív ingerlésére. A — kontroll; B — a szív taktilis ingerlésének hatása, látható az SPSP-k megszorodása; C — a szív kemoreceptorainak ingerlésekor az SPSP-k eltűnnek, a sejtmembrán hiperpolarizálódik

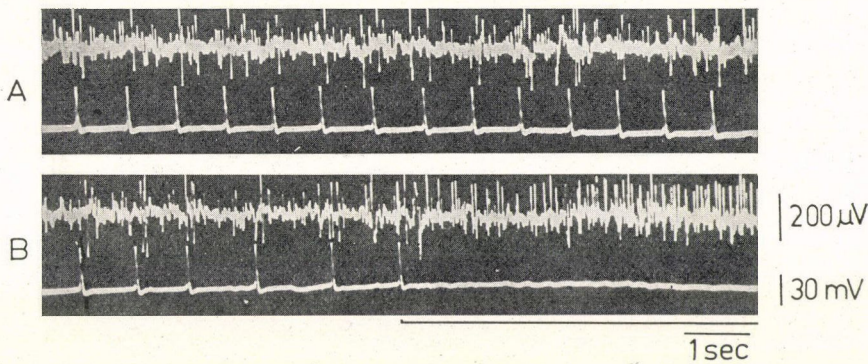
#### 4. A szív működés efferens szabályozásának neuronális alapjai

A szívidegről és egyes neuronokról történt regisztrálás során adódtak esetek, amikor nyilvánvaló volt a vizsgált neuron impulzusainak a szív felé történő terjedése. A direkt kapcsolatot a sejt intracelluláris elektródával történő depolarizálásakor, illetve hiperpolarizálásakor bekövetkező frekvenciaváltozással is ellenőriztük.

A jobb parietális ganglionban RPa5-el jelzett sejt esetén is szembevetendő az intracelluláris jel és a szívidegről elvezetett aktivitás egyik nagy amplitúdójú komponensének szoros korrelációja (17. ábra: A). A szív ingerlése ennek a sejtnek az aktivitását gátolja, s ez a csúcspotenciálok eltűnésével együtt az eddig azzal korreláló extracelluláris jel elmaradását is maga után vonja (17. ábra: B). Hasonlóan gátolja a sejtaktivitást a direkt hiperpolarizáció is. A sejt depolarizálásakor viszont mindkét jel egyidejű megszorodása észlelhető. Ezek a sejtek tehát nemcsak célsejtjei a szív receptorainak, de aktivitásuk közvetlenül visszajut a szívhez, vagyis egy szív-reflex központi neuronjainak tekinthetők.

A szív felé irányuló efferens hatások sejt működéssel való összefüggését igyekeztünk részletesen elemezni, mikor is direkt és indirekt válaszokat egyaránt figyelemmel kísértünk. Ez esetben a sejt aktivitását intracelluláris elektródán át polarizálással megváltoztattuk és a szívidegről extracellulárisan el-





17. ábra. Korreláció a jobb parietális ganglion egy sejtjének (RPa5), valamint a szívideg aktivitása között. A — kontroll; B — a szív taktilis ingerlésére adott válasz a RPa5 neuronon

vezetett minta változását követtük nyomon a polarizálás alatt, illetve azt követően. Főként olyan neuronok képezték vizsgálat tárgyát, melyek reagáltak a szív afferens ingerére, emellett azonban végeztünk kísérleteket olyan idegsejteken is, melyek aktivitását a szív ingerlése nem befolyásolta.

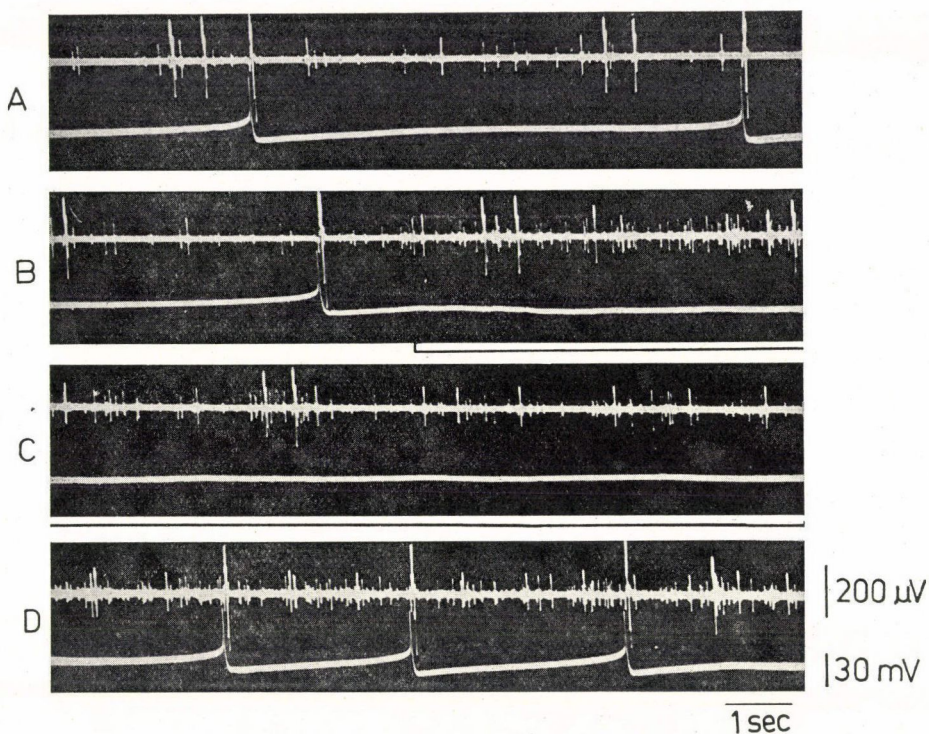
A kapott hatás alapján négy csoportba sorolhatjuk a sejteket:

a) *A szívhez közvetlen rostot küldő neuronok*

Egyes esetekben jól megítélhető, hogy a neuron aktivitása szinkronban van a szívdegről elvezetett aktivitás valamely komponensével. Korábbi vizsgálataink során ilyennek mutatkozott az RPa5, V12, V13, V14, V15 és V21 (S.-RÓZSA és SALÁNKI 1973) neuron, melyek közül a V12 esetében a szív kontrakciós aktivitására való hatását is igazoltuk. Ezekben az esetekben akkor nem nyert direkt bizonyítást, hogy a vizsgált neuron axonja a szívhez halad, s elképzelhető volt, hogy a vizsgált neuron nem motoneuron, hanem a szív valamely motoros neuronja felé bemenetet képező interneuron. Különösen a V13 sejttel kapcsolatban merülhetett fel kétely, melynek kisülését mindig többkomponensű akciós potenciál követi a szívidegen (18. és 19. ábrák). Későbbi vizsgálataink során az intracelluláris  $\text{CoCl}_2$ -os jelzés közvetlen bizonyítékot szolgáltatott arra, hogy a V12 és V13 neuron axonja a szív felé halad, ezek tehát nem tekinthetők interneuronoknak (19. ábra: C).

A kapott kép (19. ábra: C) mindkét sejtre vonatkozóan mutatja, hogy axonjuk a viscerális idegbe irányul, jöllehet az axon az ideg eredése után csak viszonylag rövid szakaszon követhető. A V12 sejt esetében az axon kettéágazása is látható, minthogy azonban a sejt aktivitásával szinkron extracelluláris jel egyetlen komponensből áll (19. ábra: A), azt kell gondolni, hogy csak az egyik ág halad a szívidegbe, a másik más szervvel van kapcsolatban. Ugyanakkor a V13 sejt kisülése kétkomponensű extracelluláris jelet eredményez





18. ábra. Korreláció a viscerális ganglion egy sejtjének (V13), valamint a szívideg aktivitása között. A — kontroll; B, C — a szív mechanikus ingerlése, a korreláló extracelluláris jel több komponensből áll; D — a V13 neuron membránjának depolarizálása

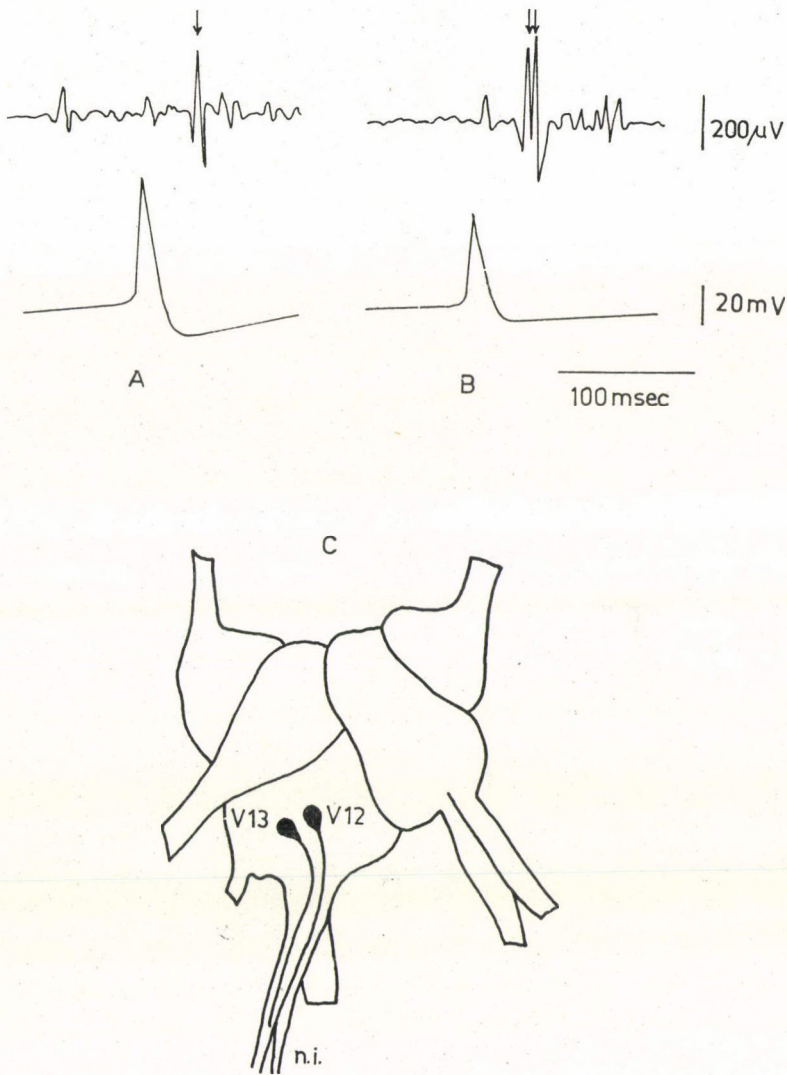
(19. ábra: B), ami arra utal, hogy e sejt axonja perifériásabban ágazik el, vagy pedig e neuron minden egyes kisülése egy másik, ugyancsak a szívhez rostot adó sejtet készítet kisülésre.

Az intra- és extracellulárisan elhelyezett elektródák távolságának, valamint az intra- és extracellulárisan keletkező akciós potenciálok között eltelt idő figyelembevételével az axonok vezetési sebességére vonatkozóan is végeztünk számításokat. A V12 sejt axonján a vezetési sebesség 50 cm/sec-nak adódott. A V13 sejtben a vezetési sebesség az első komponensre nézve 41 cm/sec, míg a második komponensre 33 cm/sec. E két neuronhoz hasonló elektrofiziológiai mutatók alapján az RPa5, V14, V15 sejtet is interneuron közbeiktatása nélküli, a szívideg felé haladó direkt efferens neuronnal lehet tekinteni.

#### b) Motoros idegekre kapcsolódó interneuronok

Találtunk olyan neuronokat, melyek kisülésével szinkron komponens nem volt található a szívidegben, azonban a sejt polarizálásakor, nevezetesen aktivitása fokozódásakor, a szívidegről elvezetett impulzáció jellegzetesen és

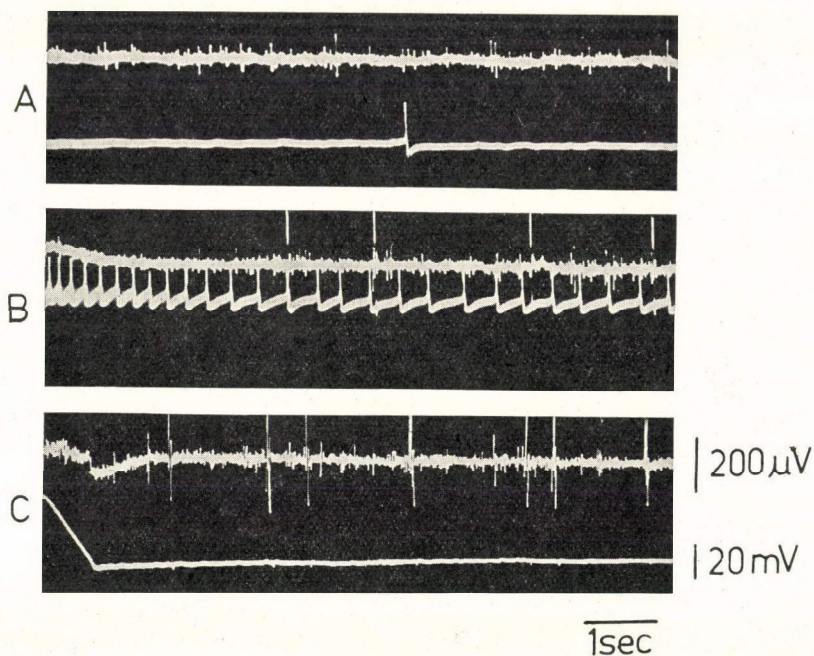




19. ábra. A — a V12 sejt kisülése (lent) és a szívidegről szinkron regisztrált extracelluláris potenciál (fent); B — ua. mint A, de a V13 sejtre vonatkozóan. Az extracelluláris potenciál kétkomponensű; C — a V12 és V13 neuron  $\text{CoCl}_2$ -vel intracellulárisan feltöltve; n. i. — intesztinális ideg

ismétléskor is karakterisztikus módon megváltozott (20. ábra). Ilyen sejtek depolarizálásakor fellépő extracelluláris potenciálok nemcsak aszinkronok a sejt aktivitásával, de néha frekvenciában is jelentősen elmaradnak attól, viszont egy ideig megmaradnak a sejtaktivitás repolarizálást követő átmeneti leállása alatt is. Ez arra utal, hogy a befolyásolt neuron szummáló szinapti-





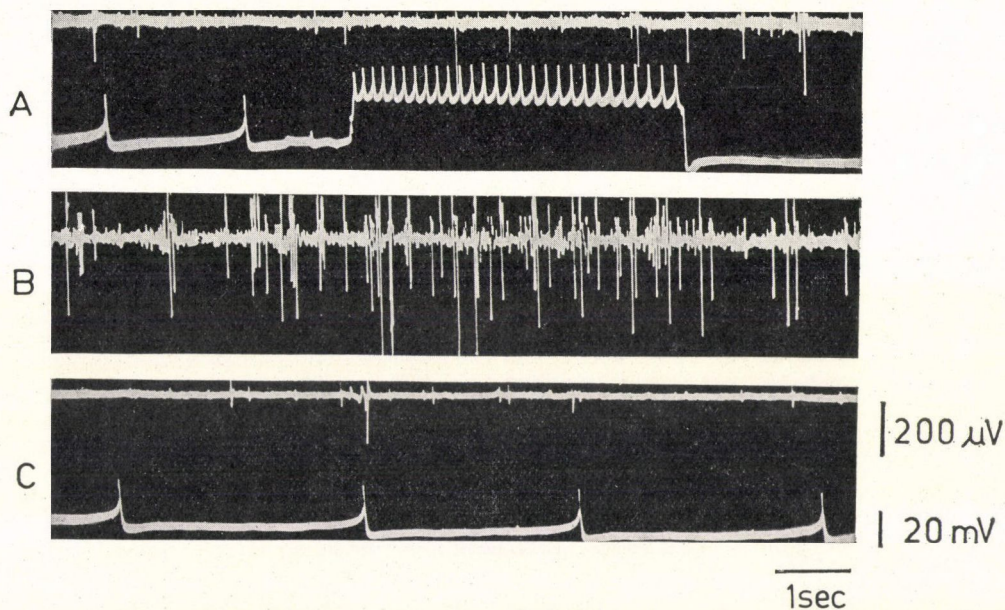
20. ábra. A neuron depolarizálásakor megszorodó, de a neuron aktivitásával nem szinkron aktivitásfokozódás a szívidegen. A — kontroll; B — a neuron depolarizációja; C — a neuron hiperpolarizációja

kus potenciálok, esetleg más neuronokon át indítja be valamely, a szív felé ható neuron működését, és ez a hatás tartósabb, mint az ingerelt neuron serkentett állapota.

### c) Késői aszinkron választ kiváltó gerjesztő neuronok

A viscerális ganglion neuronjainak 5—10 sec-ig tartó depolarizációval előidézett fokozott aktivitása általában nem okozott változást a szívideg aktivitásában, ha azonban az ingerlést ismételtük 20—30 sec-os szünetekkel, úgy néhány esetben jellegzetes késői választ kaptunk (21. ábra). A válasz fokozatosan fellépő, majd megszűnő, viszonylag nagy amplitúdójú, frekvens tüzelés, mely az amplitúdók alapján ítélve legalább három-négy neuron kisülését tartalmazza. E válasz megjelenhet az ingerlés alatt, vagy az ingerlés közötti szünetekben, és 10—20 sec-ig tart, vagy néhányszor periódikusan ismétlődik. Ezek között azonban nem szerepel a serkentett sejt aktivitásával szinkron kisülés, vagyis az ingerelt neuron axonja nem a szív felé halad. Ismételt ingerléssel a kisüléssor újból és tartósabban kiváltható, azonban néhány perc elmúltával a kontroll aktivitás visszatér (21. ábra).





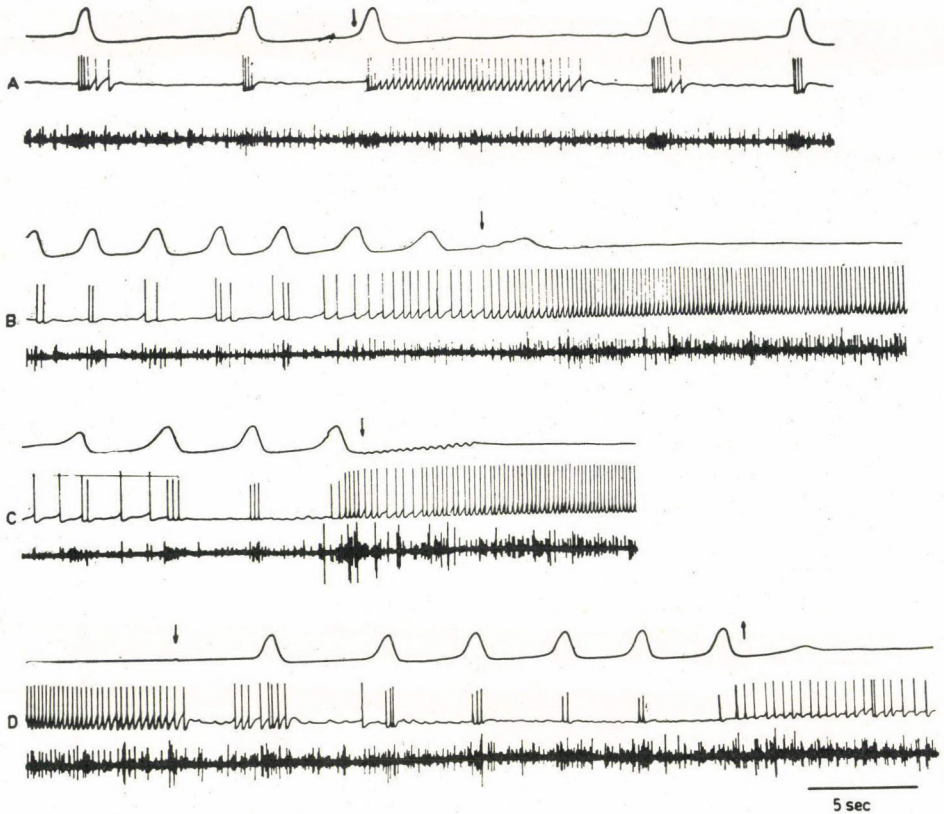
21. ábra. A neuron depolarizálásakor (A) 20–30 sec késéssel megjelenő extracelluláris aktivitásfokozódás (B); C — kontroll aktivitás helyreállítódása 60 sec múlva. A (B) bemutatott képen a neuron hallgat, erősen hiperpolarizált és a regisztrátumról lemaradt a nyugalmi potenciál szint

A késői válasz kialakításában interneuronok közreműködését kell feltételezni, ill. olyan pacemaker neuron aktiválását, mely több más, szívre direkt ható neuront gerjeszt. Minthogy a hatás nem az ingerléssel egyidőben, hanem ismétlés, illetve bizonyos latencia idő után lép fel, arra is lehet gondolni, hogy az ilyen effektus jelentősebb transzmitterfelszabadulás esetén áll elő, vagy pedig, hogy az egymással is kapcsolt extrakardiális szabályozó rendszer neuronjai kölcsönhatásának eredménye.

d) *Több bemenettel kapcsolatban álló, jellegzetes aktivitási mintázattal rendelkező interneuronok*

Két olyan sejtet találtunk, melyek nemcsak a szív receptor zónáiból érkező információ hatására módosítják működésüket, hanem a perikardium, vese, máj és véredények ingerlésére is reagálnak (V20, V21). Ezek közül azonban szív eredetű jelzésre csak a V21 hat vissza a szívre, módosítva annak működését. A V21 sejt jellegzetes fázisos vagy tónusos kisülési mintázattal rendelkezik (22. ábra: A), mely mintázat szoros kapcsolatban áll a szívműködéssel. A fázisos kisülés burst-szerű rendezettségben jelentkezik és a kisüléscsoport egybeesik a szívkontrakcióval (22. ábra: A). A sejt aktivitási mintázatának



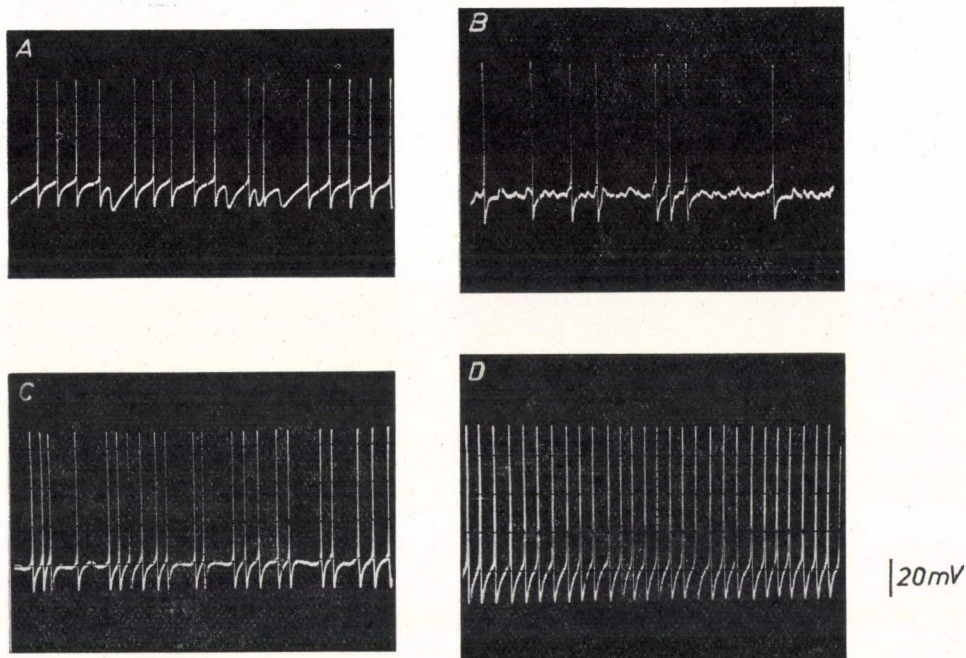


22. ábra. A V21 sejt fázisos működésének tónusossá válása különböző perifériás bemenetek hatására és vice versa. A — szív, B — perikardium, C — vese ingerlése; D — a ganglion megvilágítása; ↓ a hatás kezdete, ↑ a hatás vége

részletesebb vizsgálata azt mutatta, hogy a kisüléssor eltérő számú csúcspotenciálból épülhet fel (23. ábra: A, C) és a kisüléscsoportok között szinaptikus potenciálok jelennek meg. Tónusos működésben ezek a szinaptikus potenciálok hiányoznak (23. ábra: D). A V21 sejten mind gátló, mind serkentő szinaptikus potenciálok (23. ábra: A, B) kimutathatók, ami igazolja e sejt kiterjedt funkcionális kapcsolatát más sejtekkel. A szinaptikus potenciálok azonban nem minden esetben vannak jelen, megjelenésük bemenetek aktiválódásával kapcsolatos.

A V21 neuron fázisos működése a szív, perikardium és vese ingerlésére egyaránt tónusossá válik (22. ábra), míg a folyamatos üzemmódban való működés minden esetben megszűnik fény hatására és újra burst-szerű, fázisos működés lép fel (22. ábra). Jól látszik a 22. ábrán, hogy a V21 sejt kisülési csoportjaiban a csúcspotenciálok száma kevésbé frekvens szív működés mellett magasabb (22. ábra: A, B). A V21 sejt tónusos működésének fázissá válása





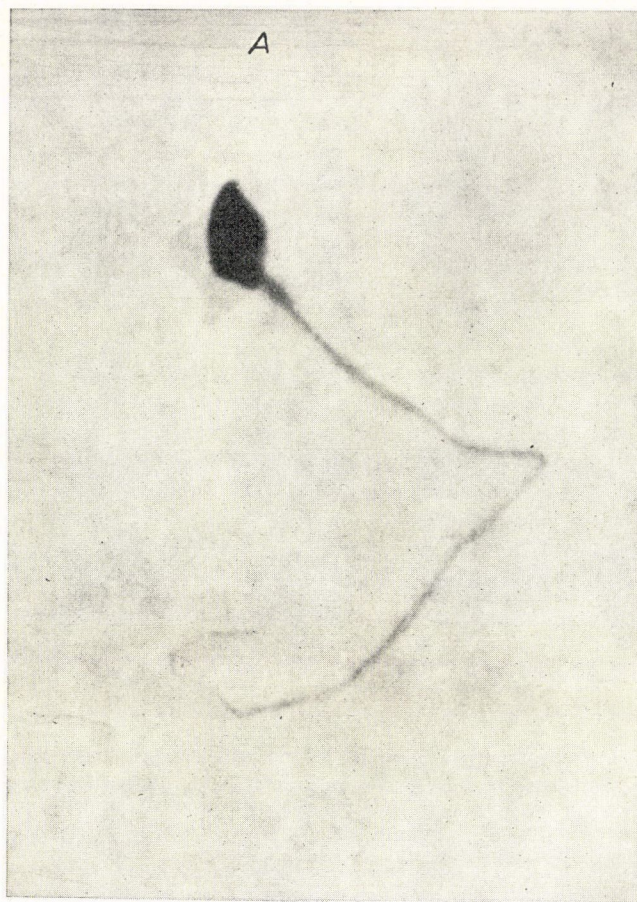
23. ábra. A V21 sejt aktivitásmintázatának jellemzői, valamint a szinaptikus potenciálok bemutatása. A sejt aktivitását oszcilloszkópról regisztráltuk a poszt-szinaptikus potenciálok jobb érzékelhetősége miatt. A, B és C — fázisos működés, a csúspotenciálok között post-szinaptikus potenciálokkal. D-tónusos működés, poszt-szinaptikus potenciálok nélkül

perifériás hatásokra leggyorsabban a szív ingerlésekor következik be, amikor az átállás pillanatszerű (22. ábra: A), míg a perikardium és vese ingerlése (22. ábra: B, C) némi késéssel vezet a szív leállításához és a V21 sejt folyamatos működéséhez. Fény hatására a burst-szerű aktivitás helyreállítódása ismét pillanatszerű (22. ábra: D).

A V21 sejt, amint  $\text{CoCl}_2$ -dal történő festéssel kitűnt, unipoláris, axonja azonban a viscerális ganglionból történő kilépés előtt elágazik; egyik ága az intestinális idegbe, másik a ganglion mélyebb rétegei felé halad (24. ábra). Jellegzetes apró leágazásokat lehet még látni e sejten az axondomb környékén, mely kiszélesedő részekben végződik az axon két oldalán (24. ábra). Ez utóbbi struktúra számos sejttel tesz lehetővé direkt kapcsolatot, s egyben biztosítja a különböző bemenetekről érkező jelzések felvételét. E leágazások a sematikus ábrán láthatók, melyet a derítés előtt fényképezett garat alatti ganglionról készítettünk (24. ábra: B).

Vizsgálataink során még egy sejtet találtunk, mely a V21-hez hasonlóan fázisos és tónusos működésre képes, ez a RPal, vagy közismertebb nevén Br-típusú sejt. E sejt aktivitási mintázatában azonban a fázisosan megjelenő burst az uralkodó forma, mely izolált ganglionban is hosszú ideig megmarad





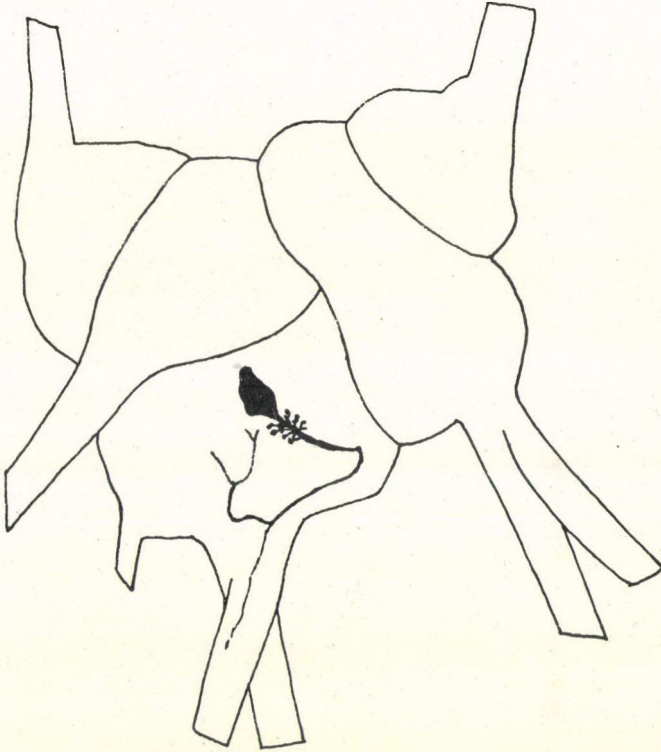
24. ábra. A V21 sejt elhelyezkedése és alakja  $\text{CoCl}_2$ -vel történő festés és rekonstrukció

(SALÁNKI és mtsai 1973). A Br-sejt aktivitási mintázata ugyancsak tónusosra vált a szív taktilis ingerlésére és az impulzuscsoporton belüli egyes csúcspotenciálok szinkronban vannak a szívideg aktivitásának egyik mintájával (25. ábra: A). Ugyanakkor azonban a V21 sejttől eltérően sohasem sikerült visszahatást kimutatni a Br-sejt felől a szív működésre, és  $\text{CoCl}_2$ -dal történő festése sem mutatott szív idegbe irányuló nyúlványokat (SALÁNKI és mtsai 1971). Mindezek alapján a Br-sejtet nem lehet direkt összefüggésbe hozni a szív működés szabályozásával, de az kétségtelen, hogy a perikardiális rendszerből érkező jelzések hatására működés módja megváltozik (25. ábra).

A V20 sejt nem rendelkezik kétfajta aktivitás mintázattal, de számos perifériáról érkező jelzés növeli kisülési aktivitását (26. ábra). Így a V20 sejt a szív, perikardium, vese és véredények felől serkentő, a májból pedig gátló



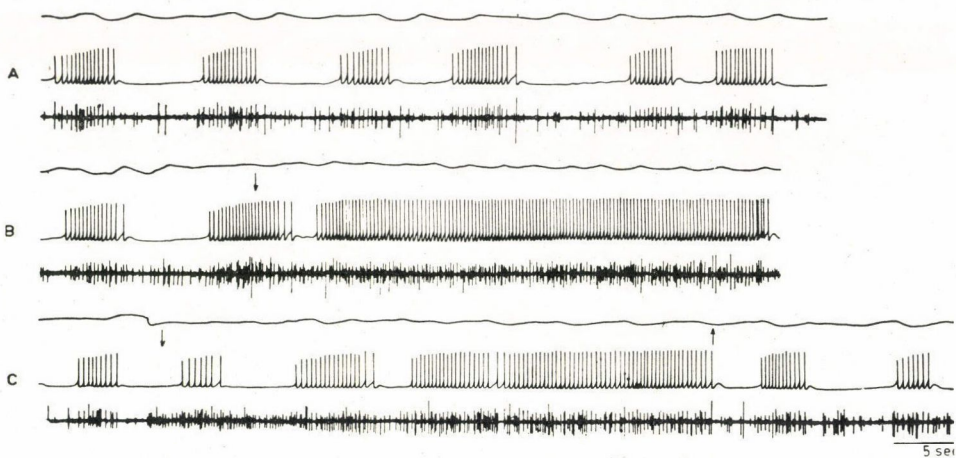
B



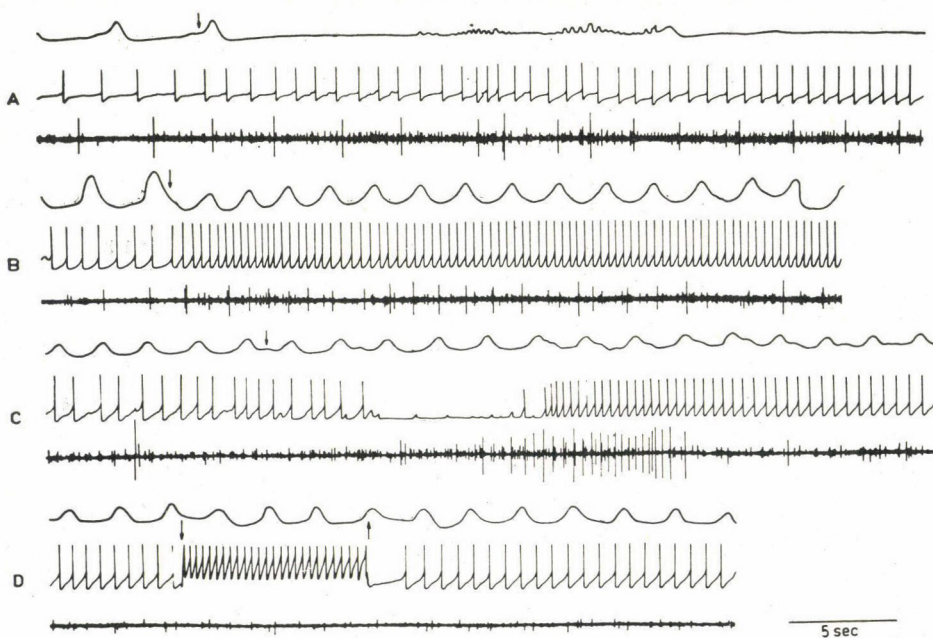
alapján. A —  $\text{CoCl}_2$ -vel való feltöltés után; B — a sejt nyúlványainak rekonstrukciója

bemenetet kap, továbbá gátlódik megvilágítás hatására is (26. ábra). A V20 sejt aktivitása és a szívműködés között az összefüggés kevésbé szembetűnő, mint a V21 sejt esetén. A V20 sejt kisülésének gyakoribbá válása nem minden esetben jár a szívműködés megváltozásával. A 26. ábrán demonstrált esetben a szívműködés frekvenciájának növekedése és amplitúdójának csökkenése a szív taktilis ingerlésének következménye (26. ábra: B), de a V20 sejt depolarizálása (26. ábra: D) nem vezet a szívműködés szignifikáns megváltozásához. Ugyanígy változatlan marad a szívműködés az esetben is, ha a V20 sejt a vese vagy a perikardium felől kap serkentő bemenetet. A V20 sejt aktivitásának gátlása sem befolyásolja a szívműködést, mint ahogyan azt a 26. ábra: C mutatja. A V20 sejt csak abban az esetben változtatta meg a szívműködést, ha a véna ingerlésének eredményeként nőtt meg kisülési aktivitása (26. ábra: A),





25. ábra. A RPal (Br) sejt viselkedése a szív ingerlése nélkül (A), valamint a szív taktilis ingerlésekor (B, C)



26. ábra. A V20 sejt aktivitási mintázata a véna és a szív taktilis ingerlésekor (A, B), valamint fény hatására (C). D — a V20 sejt depolarizálása



s ekkor a szív kontrakciós aktivitásának gátlása lépett fel. E szerint a V20 sejt, mely számos perifériával áll direkt vagy közvetett kapcsolatban a vérnyomás szabályozás révén vehet részt a cardio-vasculáris rendszer regulálásában. Feltehetően vasoconstrictor hatású sejt.

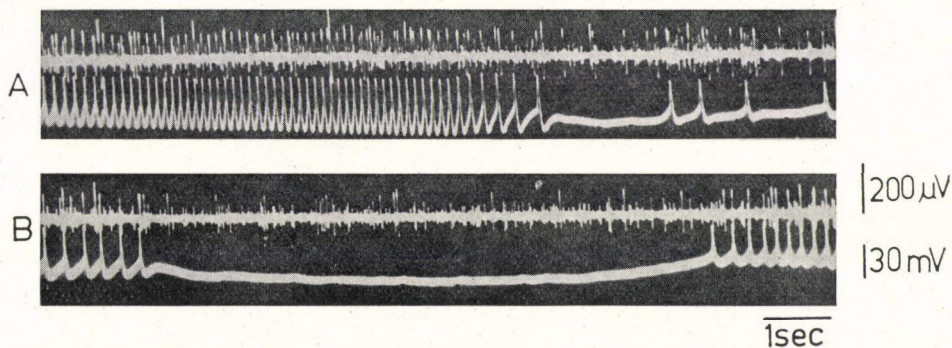
##### 5. A szívverést módosító neuronok működésének jellemzése

Eredményeinkből nyilvánvalóvá vált, hogy a központi neuronok és szívből jövő jelzések vizsgálata mellett a központi neuronok depolarizálásának és hiperpolarizálásának hatását is tanulmányozni kell a szívösszehúzóadásokra, hogy az efferens hatásokról is információt nyerjünk.

Az egyik sejt, melynek depolarizálása vagy hiperpolarizálása a szívműködést direkt befolyásolta, a V12 volt. Az intestinális ideg és a V12 neuron kontroll aktivitásához képest depolarizáláskor megnövekedett impulzáció regisztrálható, míg hiperpolarizáláskor az aktivitás jelentősen csökken (27. ábra). A V12 megnövekedett aktivitásának hatására a szívműködés frekvenciája több mint 50%-kal esik, hiperpolarizációja azonban nem okoz szignifikáns változást a szívműködésben (27. ábra). Ezt a sejtet több preparátumon ismételten meg lehet találni és biztonsággal állítható, hogy aktivitásának a szív mechanoreceptorainak ingerlésekor bekövetkező fokozódása direkt úton a szívritmus csökkenését eredményezi (II. táblázat).

A V12 depolarizálásának hatására fellépő aktivitáscsökkenést a szív kontraktilis aktivitásának regisztrálásával is igazoltuk. Bizonyos esetekben a szív teljes leállítását is megfigyeltük.

Eddigi vizsgálataink során azonban a legjellegzetesebb sejtnek, mely a szívműködéssel direkt összefüggésben áll, a V21 sejt bizonyult. A V21 sejt többhatású interneuronnak tekinthető, melynek fázisos aktivitása a szívműködéssel áll kapcsolatban, míg tónusos működését minden esetben a szív leállása kíséri, függetlenül attól, hogy a tónusos működés a sejten milyen be-



27. ábra. A V12 sejt aktivitása és a szívideg aktivitása közötti kölcsönhatás. A — a sejt depolarizálása (előtte kontroll); B — a sejt hiperpolarizálása (előtte kontroll)



## II. Táblázat

A V12 depolarizálásnak és hiperpolarizálásnak hatása a szív működés frekvenciájára

Hatás	A szív működés frekvenciája szívverés/perc	A szív működés frekvenciája a kontroll %- ában
Kontroll	13	100
Sejt depolarizálás	6	46,1
Repolarizálás	12	100
Sejt deppolarizálása	5	40,8
Repolarizálás	13	100
Sejt depolarizálás	6	46,1
Repolarizálás	13	100
Sejt hiperpolarizálás	14	107,6

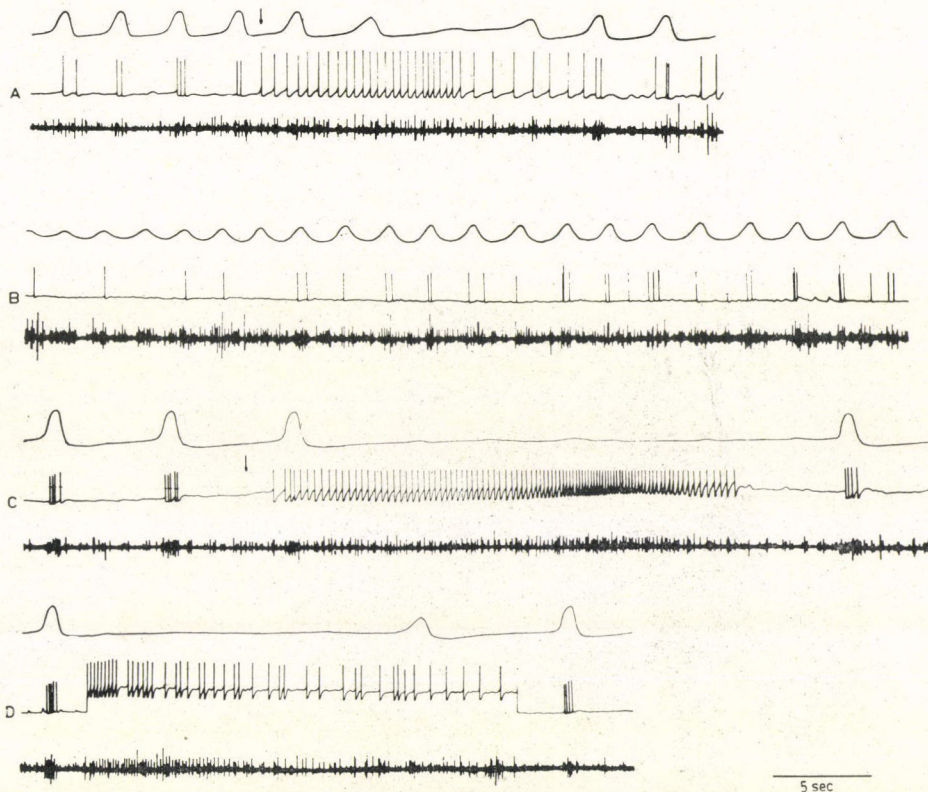
menet hatására jött létre. Az elmondottakat a 22. és 28. ábrák demonstrálják. Látható, hogy a szív, perikardium és vese ingerlésére a V21 sejt működése egyaránt folyamatossá válik és a szívverés megszűnik (28. ábra). Ugyanez a jelenség figyelhető meg akkor, ha a V21 sejt aktivitása a sejt depolarizálásának eredményeként válik folyamatossá (28. ábra: D). Ha viszont a V21 sejt folyamatos működésű és ennek következtében a szív gátolt állapotban van, fény hatására a sejt működése azonnal fázissá válik és a szív működés megindul (22. ábra), de csak a megvilágítás idejére, s ezt követően a sejt működése újból folyamatossá válik, és a szív működés szünetel.

Fázisos működés esetén a kisüléscsoporton belül megjelenő csúcspotenciálok nagysága és száma szigorú korrelációban van a szívkontrakciók gyakoriságával és nagyságával. Frekvens szív működés mellett a kisüléscsoportokban a csúcspotenciálok száma alacsonyabb (22. és 28. ábra), míg a kontrakciók nagysága a csúcspotenciálok méretével korrelál (22. és 28. ábra). Ha a szív működés bizonyos frekvencia érték fölött van, a perifériáról befutó mechanikus inger nem képes azonnal átállítani a V21 sejtet tónusos működésre és ez esetben a szív működés felfüggesztése is késik, vagy elmarad (28. ábra). A szív működés magas frekvenciájú működését eredményesen lehet létrehozni 5HT adásával (28. ábra), mely után a taktilis inger hatása a V21 sejtire nem realizálódik (28. ábra).

#### 6. A szív innerválásában részt vevő neuronok azonosítása fiziológiai és morfológiai módszerek alapján

A fiziológiai módszerekkel azonosított és elhelyezkedésük alapján megközelítően identifikált neuronokat összevetettük retrogárd módszerrel festett neuronok elhelyezkedésével. Ez esetben a neuronok szómáját a perifériás axon felől festettük. A festés az intestinális ideg szívhez menő ágán keresztül történt szív—szívideg—központi idegrendszer készítményen. Direkt vagy áteső





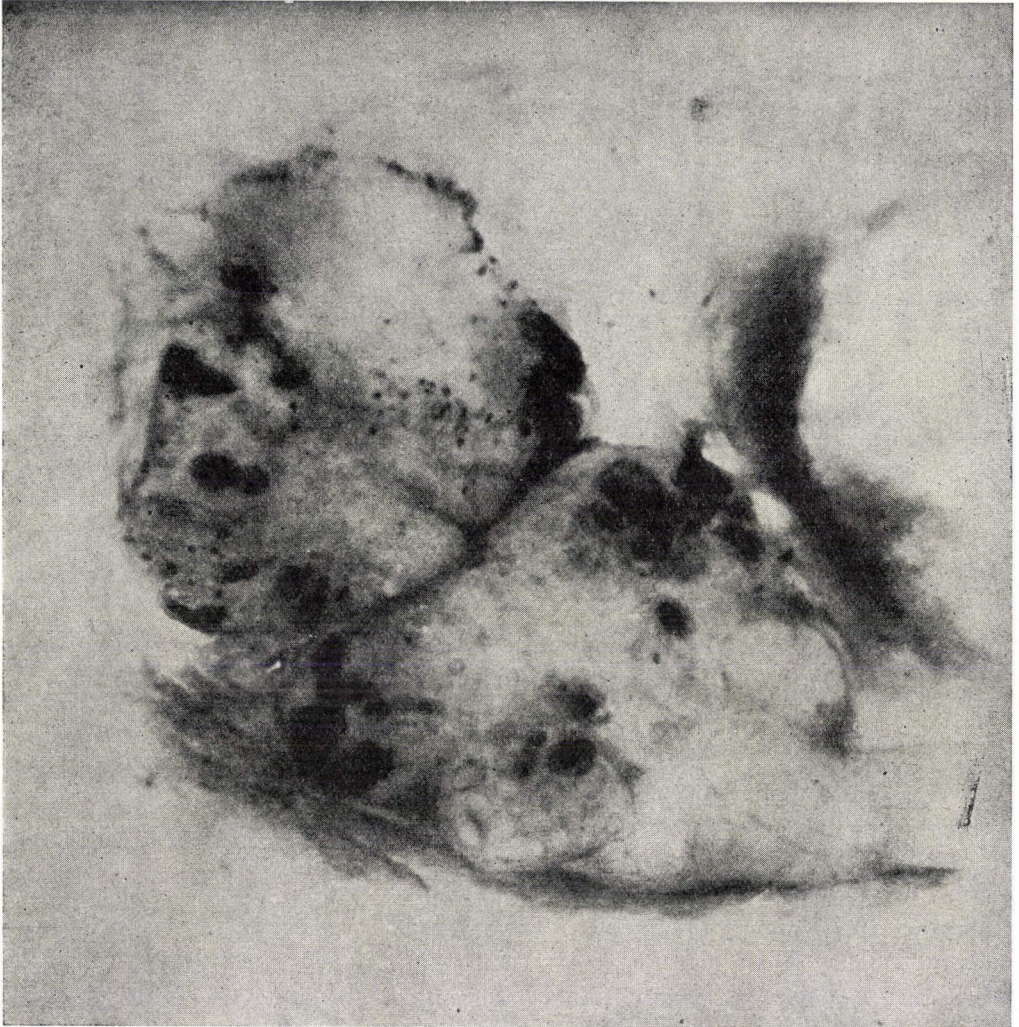
28. ábra. A V21 sejt aktivitási mintázatának összefüggése a szívműködéssel. A — a szív taktilis ingerlése; B —  $10^{-7}$ M 5HT-vel egyidejűleg alkalmazott taktilis inger hatása; C — 5HT ( $10^{-7}$ M) hatása a V21 sejt membránján; D — a V21 sejt membránjának depolarizálása

fényben a megfestett neuronok jól láthatók, s egyes esetekben az axonok lefutása is jól nyomon követhető. A 29. ábra *Helix pomatia* intestinális idegben keresztül festődött központi neuronokat mutatja. Látható a neuronok elszórt lokalizációja, mely igazolja, hogy az intestinális idegben futó axonok a központi idegrendszer különböző részeiből erednek, ami fiziológiai eredményeinkkel is megegyező.

A retrográd festés nem tüntet fel minden központi sejtet, mely a szívműködés regulálásában részt vesz, csupán azokat, melyek nyúlványai eljutnak a szívidegbe. Ezért főként motoneuronok és szenzoros sejtek azonosíthatók ezzel a módszerrel. A 29. ábrán a viscerális ganglion közepén egymás mellett festődő két sejt pl. megegyezik a V12 és V13 neuronokkal, melyek motoneuronok és ezek elhelyezkedését intracelluláris festéssel is azonosítottuk (19. ábra: C)

Feltűnő, hogy retrográd festési eljárással számos apró,  $50 \mu$  alatti nagyságú sejt is festődik. Ezek funkcionális szerepe még nem ismert, a továbbiakban azonban számolni kell jelenlétükkel a szabályozó neuron-hálózat analízisének.



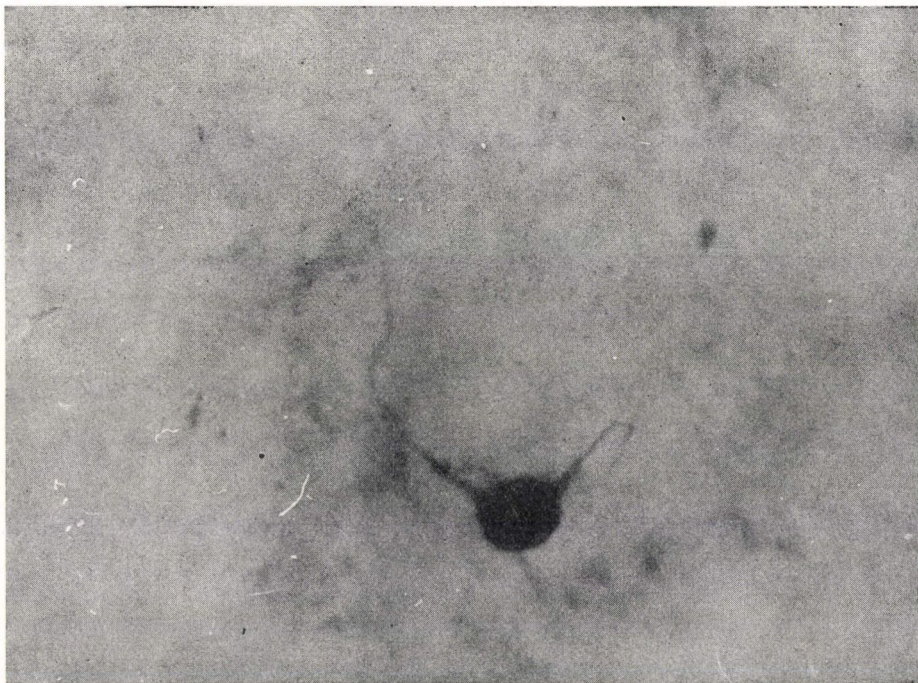


29. ábra. *Helix pomatia* központi idegrendszerében az intestinális idegen át a periféria felől festődött sejtek elhelyezkedése

A retrográd festési eljárás egyes, identifikált neuronok intracelluláris festésével kombinálva lehetővé teszi a teljes neuron-hálózat, majd szinaptikus kapcsolatok feltárását.

Egy ganglionon belül több neuron is megfesthető, akár több csatorna parallel használatával, akár egyetlen mikroelektróda más más sejtbe történő bevitelével. Ily módon festhető pl. egy interneuron (V21), majd annak követő sejtjei egymás után. Ekkor is a sejt aktivitási mintázata alapján történik a festésre kerülő sejt azonosítása (30. ábra), s a lokalizáció ez esetben ismétlődő





30. ábra. V21 sejt egyik követő sejtjének megjelenítése  $\text{CoCl}_2$ -vel történő intracelluláris festés után. A követő sejt jellegzetes bipoláris neuron, gazdag elágazással

és pontos lesz. A 30. ábra a V21 sejt egyik követő sejtjének  $\text{CoCl}_2$ -dal történt festését mutatja. A sejt jellegzetes bipoláris sejt, az axonok végződéseiben gazdag elágazással. Az ilyen típusú sejtek szolgálhatnak elsődleges érző neuronokként is.

### Megbeszélés

*Helix pomatiában* a központi idegrendszer hatása az intestinális idegben futó rostokon át jut el a szívhez, s a neuronok szómája a garat körüli gangliongyűrűben található. Vizsgálataink szerint az extrakardiális szabályozásban részt vevő, a szívidegbe rostot adó neuronok a központi idegrendszerben szórطان helyezkednek el, és nem képeznek pontosan lokalizálható központot.

Összhangban a szív kettős beidegzésével (KRIJGSMAN és DIVARIS 1955) a szívet serkentő és gátló neuronok egyaránt megtalálhatók a központi idegrendszerben, a szívizomból ennek megfelelően SPSP-k és GPSP-k regisztrálhatók (KISS és ELEKES 1972, KUWASAWA és HILL 1973, S.-RÓZSA és mtsai 1973). *Helix* szíven a gátló transzmittert acetilkolinnal azonosították (RIPP-LINGER 1957, WELSH 1972), míg a serkentő hatás transzmitterét, az 5HT-t a szív perfúziós folyadékából mi határoztuk meg (S.-RÓZSA és PERÉNYI 1966).



Vizsgálataink során bizonyítást nyert, hogy nem szükséges több serkentő, vagy gátló neuron egyidejű ingerülete ahhoz, hogy a szív működése megváltozzék. A V12 és V21 neuronok depolarizálásakor a szív működés 50%-os csökkenését, illetve felfüggesztését észleltük. Egyetlen sejt hatását a szív működésre *Limaxon* (MCKAY és GELPERIN 1972), valamint újabban *Aplysián* is leírták (MAYERI és mtsai 1974, KOESTER és mtsai 1974). Ez arra mutat, hogy a szív beidegzésében részt vevő, elszórtan elhelyezkedő neuronok nem kell, hogy egymással szoros kapcsolatban legyenek ahhoz, hogy hatást fejtsenek ki a szívre. Inkább az látszik valószínűnek, hogy a szív neuronok egymástól függetlenül képesek a szívritmus modulálására, s azok mindegyike más-más reflexzóna befolyása alatt áll. A rendszerbe számos receptor mezőről érkezik információ, de a perifériás szerv működése csak a vezérelemek aktivitásától függően módosul.

E reflexzónák között speciális helyet foglal el a szív saját receptor zónája. Vizsgálataink igazolták, hogy a szívet ért mechanikai, ozmotikus, nyomás és kémiai ingerek nemcsak a pacemaker működést befolyásolják, hanem specifikus afferens impulzációt indítanak a központi idegrendszer felé, ami a receptor zónáknak az állat egész szabályozó rendszerébe való beilleszkedéséről tanúskodik. Kísérleteinkben kiterjedtebben vizsgált mechanikai és kémiai ingerek egyaránt eredményezhetnek serkentést vagy gátlást központi neuronokban, s e neuronok között vannak, melyek axonja a szív felé rányul, vagyis mint motoros neuronok a szív működés szabályozásában vesznek részt. Csigák szív működésének a különböző szervek által történő reflexes befolyásolhatóságát DEVLIEGER (1970) és mások is leírták. Vizsgálataink során sikerült sejt szinten igazolni, hogy ilyen reflexes hatás a szív felől is kiváltható. Ez a szív működés szabályozásának feed back rendszerét igazolja és bizonyítja, hogy a szív extrakardiális szabályozása nemcsak a szíven kívüli szervekből érkező információk hatása alatt módosítja a szív működést, de a szívből érkező jelzések hatására is. Élettani körülmények között a szív működése során a vér kémiai összetétele, a szív összehúzódásaival együttjáró nyomásváltozások, a szívfallal érő mechanikai változások és a környező szövetek mozgása egyaránt ingert jelent a szív receptoraira, s így ezek afferens jelzéseket indítanak a központi idegrendszer felé. Ha a központi idegrendszeri impulzusok a szív működést megváltoztatják, ugyanazon receptor rendszer mint feed back szisztéma működik.

A szív ingerlésekor kapott serkentő és gátló neurális effektusok megjelenése azt mutatja, hogy a szívből érkező afferenciáció a központi idegrendszeri aktivitás meghatározásában differenciált szerepet játszik és a szív működés szabályozásán túlmenően eltérő reflexválaszok kialakításában is részt vehet. Nem ismerjük ugyan, hogy a befolyásolt sejtek többsége a fokozódó vagy csökkenő aktivitás révén milyen effektor működések regulációjában vesz részt, az azonban valószínű, hogy a szívet ért hatások ezen az úton más szer-



veken realizálódó reflexválaszok kiváltói is. Ily módon a szív felől befolyásolt neuronok különböző szabályozó mechanizmusok kialakításához szolgáltatnak afferens bemenetet.

Különböző receptor zónák ingerlésekor *Aplysia* (HUGHES és TAUC 1962), *Buccinum* (BAILEY és LAVERACK 1966) és *Anisodoris* (GORMAN és MIROLI 1969) idegrendszerében is kimutattak serkentő és gátló válaszokat, KUPFERMAN és KANDEL (1969) ezek perifériás szabályozásban játszott szerepére is rámutatott. Ezek a szerzők a fej, kopoltyúk és parapodium receptor zónáiból érkező jelzések neuronális hatásában a szinaptikus befolyást igazolták. Az a tény, hogy a kísérletek többségében szinaptikus potenciálokat nem kaptunk esetenként magyarázható a vizsgált neuron szenzoros jellegével, melyet MELTON (1972) írt le egy Pelecypoda, a *Spisula solidissima* viscerális ganglionjában. Valószínűbb azonban az, hogy azért nem sikerült rendszeresen szinaptikus potenciálokat regisztrálni, mert a szinapszis az axon távolabbi részén helyezkedik el, és a pacemaker zónát befolyásolja ugyan, de maga a PSP nem terjed rá a szómára. Az irodalomból ismert, hogy az axonon lefutó ingerület nem mindig terjed át a szómára (TAUC és HUGHES 1963, ARAKELOV 1973), lehetséges tehát, hogy az utóbbiból történt intracelluláris elvezetéskor csak részleges információt kaphatunk azokról a hatásokról, melyet az afferens impulzáció az általunk vizsgált neuronban előidéz. Az a tény azonban, hogy afferens ingerlés hatására PSP csak igen ritkán, a sejtaktivitás megváltozása viszont viszonylag gyakran észlelhető volt, arra utal, hogy a szóma aktivitás, még olyankor is mutatója lehet az afferens befolyásnak, amikor a PSP-k nem vezetődnek rá a szómára. Éppen ezért jogosnak tűnik az a feltételezés, hogy a szív afferensek támadáspontjának elsősorban azokat a neuronokat lehet tekinteni, amelyek aktivitása megváltozik a szívreceptorok ingerlésekor. Ugyanezen neuronok közül kerülnek ki azok, melyek a szív működésére visszahatva azt módosítják, vagy más szervek felé a szívből érkező bemenet által megváltoztatott ingerületet továbbítanak.

A szívidegbe impulzusokat küldő sejteknek csak egy része volt befolyásolható a szív taktilis vagy kémiai ingerlésével. Ezek az előbb említett szív—szív reflex átkapcsolási helyei, míg a többiek valószínűleg más receptor zónákból kapnak ingerületet, illetve a szív működés központi szabályozásában más szereppel bírnak. A szívet beidegző rostok haladhatnak közvetlenül a szívizomhoz és transzmitter felszabadítása befolyásolhatja a szív működést. Ezek szerepe lehet a gátló acetilkolin, vagy serkentő 5HT felszabadítása, illetve ezek játszhatnak szerepet a *Helix* szívben korábban leírt miniatúr posztzinaptikus potenciálok képzésében is (S.-RÓZSA és mtsai 1973). Másrészt azonban ezek a központi neuronok szerepet játszhatnak olyan szekréción, vagy tároló sejtek működésének befolyásolásában is, melyet *Lymnaea* szívben korábban kimutattak (S.-RÓZSA és Zs.-NAGY 1967), ílymódon szekrérum felszabadulást indukálhatnak, s közvetve befolyásolják a szív működést.



A V12 sejt, melynek aktivitásfokozódása a szívritmus csökkenését eredményezte, valószínűleg közvetlen ACh-fel szabadításával hat. Erre utal az is, hogy a sejt hyperpolarizálásával együttjáró aktivitáscsökkenés nem volt befolyással a szívritmusra, csak a depolarizációt követő aktivitásfokozódás. Figyelemreméltó, hogy MCKAY és GELPERIN (1972) a *Limax maximus* viscerális ganglionjában olyan sejtet talált, melynek aktivitásfokozódása serkentette a szív működést, és feltehetően 5HT liberálása révén hatott. A V12 sejt ugyanakkor a szív taktilis ingerlésére is érzékeny, és pedig aktivitásfokozózással válaszol, ily módon a szív—szív reflex gátló neuronjának tekinthető.

Ugyanazon neuronok kemo- és mechanoreceptorok felőli befolyásolhatóságának vizsgálata során az derült ki, hogy kevés az olyan idegsejt, mely csak az egyik ingerfélésegre reagálna. Olyan sejt már több adódott, mely a két ingerfélésegre ellentétes választ adott. A különféle ingerek azonos képviselője azt mutatja, hogy kevés elsődleges érző neuron lehet a vizsgált sejtek között, melyeket a specifikus inger direkt hozna ingerületbe. Ilyen elsődleges érző neuronként ismertek a rákok mechano- és stretch-receptorai, Arthropodák chordotonális szerve, az izmok proprioceptorai, míg másodlagos érző neuronoknak tartják az Arthropodák központi fényérzékelő rendszerét, valamint a gerincek ízérzékelő receptorainak neuronjait (GRUNDFEST 1971). Feltehetően ezek a másodlagos érző neuronok vesznek részt nagyobb számban a *Helix* szív érző működésének központi képviselőjében is. Ez annak ellenére igaz, hogy — amint azt fentebb hangsúlyoztuk — posztzinaptikus potenciálokat a receptorok ingerlésekor csak kevés sejtől lehetett regisztrálni. Feltehető, hogy a pacemaker zónából történő elvezetés esetén sokkal gazdagabb szinaptikus befolyásoltságot lehetne kimutatni.

A kétfázisú válasz esetén adódtak inkább esetek, amikor PSP-k előtűntek. E választípus háttérben valószínűleg mindig szinaptikus befolyásoltság áll, és pedig feltehetően gátló és serkentő szinapszisok olyan konkurenciája, mely tartós hatás esetén váltakozva jut érvényre. Valószínűnek látszik, hogy taktilis ingerlés alkalmazásakor is gyakrabban kaphattunk volna bifázisos választ, ha az ingerlést percekig folytattuk volna.

A két ingerfélésegre ellentétesen reagáló neuronok léte közvetett bizonyíték arra, hogy a felvevő készülékek között specifikus taktilis és kemoreceptorok vannak, bár ezek morfológiai megjelenéséről semmi ismeretünk nincs. Minthogy mindkét ingerfélése fokozott afferens impulzációt eredményez a szívidegben, az ellentétes sejt szintű válasz azt is jelzi, hogy neuron szinten is van specificitás, az érző területeknek megfelelően, és lehetséges, hogy az elsődlegesen érző neuronok formájában van jelen. Feltehető, hogy a szívreceptorok hatása alatt álló érző neuronok kapcsolt rendszert alkotnak, ahhoz hasonlóan, ahogyan ezt *Hirudo medicinalis* tapintásérzékelő sejtjeire leírták (BAYLOR és NICHOLLS 1969). Ez a kapcsolat lehetőséget teremthet nemcsak az ingerfélé-



ségek eldifferenciálására, de a különböző bemenetek integrálására is, illetve az inger eredési helyének identifikálására is.

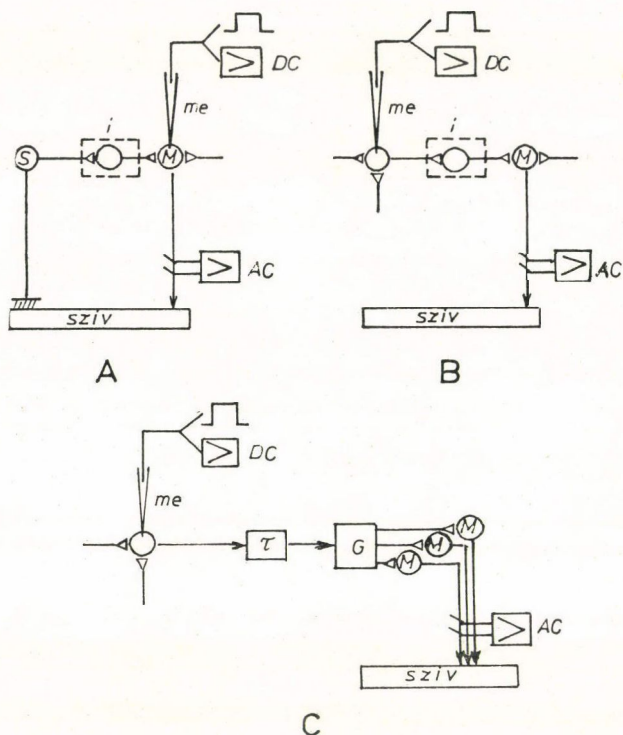
Egyes Gastropodák néhány óriás neuronjának funkcionális szerepe jól ismert mind központilag triggerelt motoros funkciók (WILLOWS és HOYLE 1968), mind reflexválaszok (KUPFERMANN és KANDEL 1969, PERETZ 1969, KUPFERMANN és mtsai 1971, WEEVERS 1971) kialakításában. A központi idegrendszer integratív működése szempontjából a neuronok pacemaker tulajdonságai mellett a neuronkapcsolatok, szummációs és triggerműködések alapvető jelentőségűek. Utóbbiak nyilvánvalóan a szív működésének központi szabályozásában is nagy jelentőséggel bírnak.

A szívműködés extrakardiális szabályozása azon sejtek funkciója, melyek axonja a szívidegben halad, és e sejtek működését befolyásoló más neuronok, esetleg receptorzónák ingerülete direkt, vagy interneuronális kapcsolat révén meghatározó lehet a szívritmus kialakításában. Ezt mutatják azok a kísérleteink, melyekben egyes sejtek depolarizációval történt ingerlése után különböző jellegű válaszokat kaptunk a szívidegről. Attól függően, hogy a szívidegről regisztrált aktivitás a sejtműködéssel szinkron, vagy aszinkron jelentkezett, esetleg ahhoz képest megkésett volt, különböző neuronális mechanizmusokat tételezhetünk fel.

Amikor a vizsgált neuron aktivitását a szív ingerlése módosította, s a sejt kisülései a szívidegről szinkron regisztrálhatók voltak (pl. V13 sejt), monoszintaptikus kapcsolás is feltételezhető, de mindenesetre kevés számú interneuronnal kell számolni (31. ábra). Amikor a vizsgált sejt kisülései a szívidegben nem voltak felismerhetőek, de a sejt depolarizációja aktivitásfokozódást eredményezett a szívidegben (20. ábra), legalább egy, de esetleg több szinapszist is fel kell tételeznünk az efferens neuronig (31. ábra). Ugyanakkor e sejt bemenetet kaphat a szívből és más receptor zónából is. Abban az esetben, amikor a sejt többszöri ingerlése után csak késői válasz jelentkezett a szívidegen, mely mintegy erősen gerjesztett aktivitásnak tűnik, olyan kapcsolás tételezhető fel, mely több csatolt neuront foglal magában és öngerjesztésre is alkalmas (31. ábra). A serkentő szinaptikus kapcsolások mellett természetesen gátlók is lehetnek, ami a válasz specifikusságát és időbeli korlátozottságát is meghatározhatja. Nem zárható ki az a lehetőség sem, hogy a késői hatás nem kapcsolási sajátosságokkal, hanem masszív, lokális, transzmitter-felszabadulással függ össze.

Újabban *Aplysia* abdominális ganglionjában is azonosították a cardiovascularis rendszer szabályozásában részt vevő központi neuronokat (MAYERI és mtsai 1974, KOESTER és mtsai 1974), de ezek a vizsgálatok nem szenzoros bemenetek központi képviselőitének analízisére épülnek, csak a központi neuronok szív felé képzett kimeneteit veszik figyelembe. A fenti szerzők hét motoneuront és egy interneuront identifikáltak s leírták néhány interneuron hatását követő sejteken, de ezek számáját nem találták meg. E vizsgálatok, adatainkhoz





31. ábra. Lehetséges neuronhálózati kapcsolási séma különböző regisztrálási ill. ingerlési feltételeknél kapott válaszok alapján. M — szívhez haladó motoneuron; S — szív receptorok érző neuronjai; m. e. — mikroelektrodával jelölve a vizsgált neuron; D. C. — intracelluláris elvezetés; A. C. — extracelluláris elvezetés a szívdegről; i — interneuron(ok). A — a szív ingerlésére reagáló és a szívhez rostot küldő neuron; B — a neuron depolarizálásakor aszinkron viszonylag gyorsan jelentkező extracelluláris aktivitásfokozódást eredményező rendszer C — neuron depolarizálásakor késéssel és több motoros sejt nem rendezett aktiválásával reagáló rendszer;  $\tau$  — késleltető csatoló egység; G — generátor hálózat

hasnólóan, a motoros pályák független jellegét hangsúlyozzák, melyek koordinált működését magasabbrendű interneuronok végzik. Az identifikált interneuron aktivitásában ugyancsak kétfajta (fázisos és tónusos) aktivitás mintázatot írnak le, amely hasonló az általunk V21 sejtnek nevezett neuron aktivitásához, de ezt perifériás bemenetektől független „központi programként” kezelik. Ezt az elképzelést adataink nem támasztják alá, mivel a többbhatású interneuron (V21) kétfajta mintázata bemenet-függő, s nem független központi mintázat (l. 22. és 28. ábrák). Izolált ganglionban a V21 sejt csak folyamatos aktivitást mutat.

A vizsgált sejtek nagy része több sejtől kap bemenetet, mint ahány vissza is hat az adott szerv működésére. Ennek jó példája a V20 sejt, melynek aktivitását a szív, perikardium, vese, véredények aktivitása egyaránt módosítja, de egyedül a véna ingerlése vezet a szív működés modulálásához. Az ilyen-



fajta sejtek a hálózaton belül az esetek többségében csak reléállomásként szolgálnak, s feltehetően csak korlátozott számú esetben képesek direkt döntésre, mely szabályozott cselekvést von maga után, míg más esetekben csak továbbítják, elosztják vagy osztályozzák a perifériáról érkező jelzéseket. Részt vehetnek esetleg a perifériáról érkező jelzés bizonyos ideig tartó „őrzésében”, anélkül, hogy már ezen a szinten megtörténne az információt küldő szerv működésének módosítása.

A szív szabályozását végző neuronok egységes rendszerként kezelhetők, melyeket a szabályozásban betöltött funkció rendez neuronhálózattá. Így adataink általánosabban értelmezhetők, s a rendszer elemi neuronhálózati mintának tekinthető. Neuronhálózat alatt általában a meghatározott módon szinaptikusan kapcsolt neuronok csoportját (halmazát) értjük. A neuronhálózatot pacemaker és nem pacemaker jellegű idegsejtek építik fel. A pacemaker neuronok általános tulajdonságai (kezdeti depolarizáció, membrán oszcilláció) meg egyeznek a pacemaker működésű izomsejtekével, s jellegzetességük, hogy bemeneti jel nélkül is aktiválódnak, míg a nempacemaker jellegű idegsejtek aktiválása bemeneti jeltől függ. Ha az ideghálózatban nincs pacemaker neuron, akkor a csúcspotenciál képzés megszűnik bemeneti jel hiányában, ha azonban a hálózatban pacemaker neuron is van, akkor a bemeneti jel elmaradásakor a kezdeti frekvencia értéke áll helyre. Első esetben a bemeneti jel határozza meg a hálózatra jellemző kimenetet, míg a második esetben csak modulálja azt. A nem stabil ideghálózatokra ezen túl az is jellemző, hogy a működés során a kapcsolatban levő sejtek halmaza, illetve a működés paraméterei is változnak.

Az idegrendszerben az egyes neuronok közötti kölcsönhatást szinaptikus hatások (elsődlegesen afferens hatások), perifériás receptor mezők projekciói és interneuronális kapcsolatok határozzák meg, s így alakulnak ki az egy (vagy több) funkció szabályozásában részt vevő neuronhálózatok. Az adott neuron több forrásból kaphat információt, és annak a lehetősége is fennáll, hogy a különböző bemeneti jelekre másként változik a szinaptikus, antidróm és pacemaker jellegű aktivitás.

Az általunk identifikált, csiga szívműködésével kapcsolatban álló idegsejtek is egy neuronhálózat tagjaiként foghatók fel, melyeket egy szerv szabályozása kapcsol össze. E rendszer néhány szembetűnő sajátossággal bír,

1. A neuronhálózat kiterjed a központi idegrendszer csaknem minden morfológiai egységére.

2. A neuronhálózat sejtjeinek többsége többfajta projekciós mezőről kap bemenetet (pl. taktilis-kémiai).

3. Gyakoribb a kettősen reagáló (+, — irányba kitérő) neuron, különösen kemoreceptorok ingerlésekor.

4. Nagyobb a szív felől befolyásolt neuronok száma, mint a szív felé kimenő jelet küldő, efferens neuronoké.



A *Helix pomatia* szív működését szabályozó neuronhálózatot pacemaker és nem-pacemaker működésű neuronok építik fel. A rendszer feltehetően több önálló, kimenő csatorna működésén alapszik, amelyet az is igazol, hogy a viscerális ganglion két sejtje (V12, V13), melyek a szív reflex központi neuronjai, parallel futó axonnal rendelkeznek, s ezek egymással kapcsolatot nem mutatnak (19. és 29. ábra), vagy legalábbis az eddigi vizsgálatok szerint ez nem tűnt ki.

A neuronhálózatok elméletileg lehetséges szerveződési típusaiban az ilyenfajta hálózatfelépítést túlbiztosított hálózatnak nevezik (DEUTSCH 1967), ami azt jelenti, hogy elvben a rostrendszer egyetlen rost is helyettesítheti.

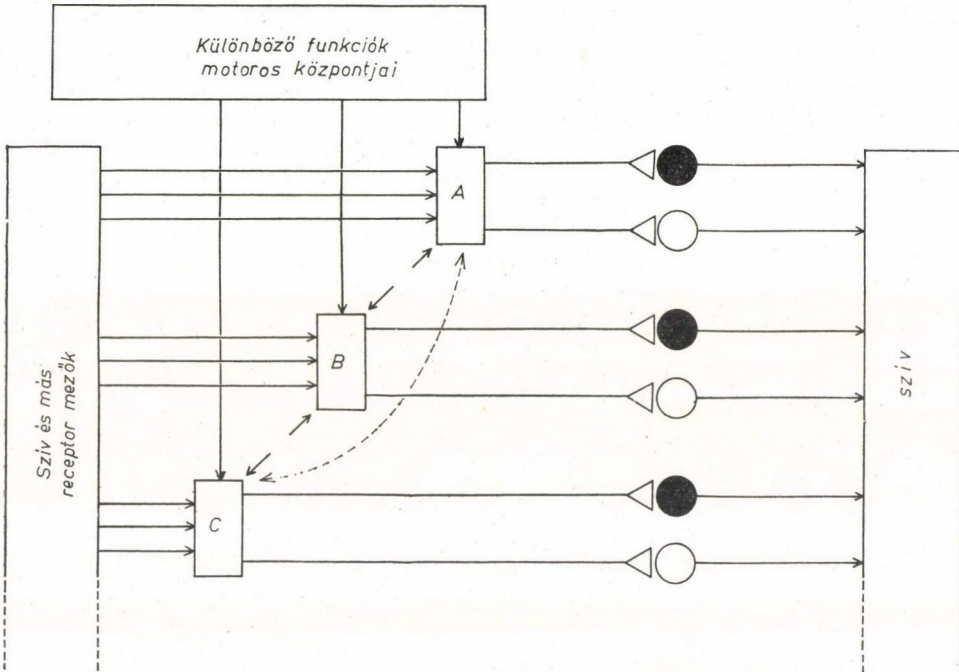
A túlbiztosított konvergáló típusú hálózatban a bemenettel bíró neuronok száma meghaladja a kimenettel bíró neuronok számát ( $N_b < N_k$ ). Ezzel szemben a divergáló túlbiztosított hálózatban a kimenettel bíró neuronok vannak túlsúlyban a bemenettel rendelkező sejtekkel szemben ( $N_k < N_b$ ), így a hálózat működésében a divergencián van a hangsúly, mert egyetlen bemeneti neuron jele átterjedhet néhány, vagy a rendszer minden neuronjára, bár ez nem azonos működést, csak modulálást jelenthet a mellékághoz tartozó neuronokon.

A fenti elméleti megfontolásokból fakadó hálózati sémák alkalmazhatók az általunk vizsgált konkrét neuronhálózat esetén, mint analógiák. Erre az analógiára okot ad a bemenő jelleg túlsúlya és a hálózat szórt jellege, amely a kísérletekben kivétel nélkül szembetűnt. Az adatok alapján a konvergáló túlbiztosított hálózat jelenléte látszik valószínűnek, különösen, ha számításba vesszük, hogy a szív afferens neuronjaira nemcsak a szív receptorok afferenciációja, de számos más receptor és esetleg effektor mező is ad moduláló bemenetet akár direkt, akár indirekt kapcsolat révén.

Eredményeink figyelembe vételével a *Helix* szív központi szabályozását ellátó neuronhálózatot a 32. ábrán feltüntetett séma szerint képzelhetjük el. Adataink alapján a hálózatban pacemaker és vezérelt sejtek jelenlétét egyaránt feltételezhetjük. Ezek a sejtek a különböző ganglionban (A, B, C) helyezkednek el és egymással a kommisszurákon keresztül kapcsolatban lehetnek, jóllehet e kapcsolatokról ma még direkt információnk nincsen. Ugyancsak a ganglionokban helyezkedik el egy, vagy néhány olyan sejt, mely a szív felé direkt kimenetet képez (serkentő és gátló sejtek), s melyek hatásossága kollaterális, antagonista gátlás révén fokozódhat. Ez utóbbi ugyan nem feltétele a működésnek, amit az bizonyít, hogy egyetlen motoros neuron aktivitásfokozódása 50%-os ritmuscökkenést eredményez a szíven anélkül, hogy más, az intestinális idegbe rostot küldő sejt aktivitásfokozódása észlelhető lett volna.

A ganglionok bemeneti oldalán többféle hatás jelentkezhet. Vizsgálataink viszonylag sok neuront tártak fel, melyek működése már a szívreceptorok ingerlésére is módosul. Bizonyára más receptor zónák és esetleg motoros központok is befolyásolnak olyan neuronokat, melyek a szív efferensekkel lépnek





32. ábra. Helix szív extrakardiális szabályozásának neuron-hálózati sémája. Magyarázat a szövegben

kapcsolatba, s módosítják azok működését. E hatások serkentők és gátlók egyaránt lehetnek, sőt bifázisos és alternáló effektusokkal is találkozunk. Valószínű, hogy a neuroningerlés esetén kapott késői válaszok (21. ábra) a szív közvetlen szabályozó neuronjaitól távolabb eső neuroncsoportoknak a szívszabályozás neuronhálózatába való megkéső bekapcsolásával függenek össze.

Adataink alapján feltételezzük, hogy ennek a neuronhálózatnak elsődlegesen információgyűjtő szerepe van és bizonyos fokú moduláció, de a tényleges szabályozás a szívműködést befolyásoló neuronok szintjén történik. A kemoreceptorok központi képviselőjének vizsgálatakor szembevető volt, hogy a viscerális ganglionban a központban helyezkednek el a szívműködést módosító (V12) vagy a szívdeleg aktivitásával korreláló (V13) sejtek. Ezek a külső információgyűjtő hálózatokhoz képest központi elhelyezkedésű sejtek, melyek esetleg több ganglionban is megtalálhatók, s mintegy funkcionális magot alkotva, végezhetik a koordinációt. Ma még nem tudjuk megmondani, valós-e a szabályozásban ez a két szint (az információgyűjtő és koordináló), sem azt, milyen a kapcsolat e két hálózat között. Van azonban mód arra, hogy különböző módszerek alkalmazásával feltárjuk a szívszabályozásban részt vevő különböző típusú neuronok strukturális kapcsolatát. Ezen túlmenően azonban



lehetőségünk nyílna a feltárt neuronhálózat olyan modellként történő felhasználására és értelmezésére, amelyben a központi elemek tetszőleges egyiségének modifikálásával vizsgálni tudjuk a bemeneti jelek realizálódásának feltételeit, valamint a rendszer elemeinek független vagy kapcsolt jellegét. Munkánk jelen szakaszában e törvényszerűségek feltárása folyik.

### Összefoglalás

Vizsgálva *Helix* szív—szívideg—központi idegrendszer készítményén a szív szabályozásában részt vevő neuronhálózat, valamint az ehhez tartozó szenzoros bemenetek jellegét, megállapítottuk, hogy:

1. *Helix pomatia* szívéből kontroll körülmények között háromféle ( $\sim 500$ ,  $\sim 300$ ,  $\sim 50 \mu\text{V}$ ) amplitúdójú afferens jelzés halad a központi idegrendszer felé az intestinális ideg szívhez menő ágán, melyek közül kettő szíveredetű. A szívet ért taktilis, nyomás-, ozmotikus és kémiai ingerek hatására jellegzetesen változik a központ felé haladó impulzáció. Legnagyobb mérvű frekvencianövekedést a taktilis receptorok ingerlésekor kaptuk ( $\sim 500\%$ ), ezt követte a kemoreceptorok ( $\sim 400\%$ ), az ozmoreceptorok ( $\sim 300\%$ ), majd a nyomásérzékelő receptorok válasza ( $\sim 200\%$ ). A taktilis, kemo- és ozmoreceptorok a lassan adaptálódó, a nyomásérzékelő receptorok a gyorsan adaptálódó receptorok csoportjába sorolhatók. Az adatok legalább két eltérő felvevő végkészülék jelenlétére utalnak *Helix pomatia* szívében. *Helix* szíven is az extrakardiális innerváció afferens és efferens komponenseinek koordinált működése képezi az alapját a szabályozásnak. E szabályozó kör perifériás részén a felvevő és továbbító elemek ugyanazon működési egységeit találjuk, mint magasabbrendűekben, s így azokkal analóg képződményeknek tekinthetők.

2. A szív taktilis ingerlésére a központi idegrendszer egyes neuronjain az alábbi reakciótípusok voltak megfigyelhetők:

a) A szív taktilis ingerlésére 20 bizonyítottan különböző sejt reagált, s a válasz a spontán aktív sejteken gátlás (11 sejt), aktivitásfokozódás (8 sejt), vagy kettős hatás (egy sejt) volt. E sejtek főleg az intestinális ideg eredési helye körül találhatóak, de előfordulnak a viscerális és parietális ganglionok távolabbi területein is. A sejtek gátlása és serkentése az esetek többségében GPSP-k, illetve SPSP-k közbeiktatásával történik. Más sejtekről feltételezhető, hogy elsődleges érző neuronoknak felelnek meg.

b) A viscerális ganglion egy sejtje (VI2) mely a szív taktilis ingerlésére aktivitásfokozódással reagál és melynek kisülései a szívideg aktivitási mintázatában identifikálhatók, gátolja a szív működést. E sejt a szív extrakardiális szabályozó rendszeréhez tartozó gátló motoneuron.

3. A szív kemoreceptorainak ingerlésekor az alábbi központi reakciókat figyeltük meg:



a) A szív kemoreceptorainak ingerlésére 13 sejt reagált a viscerális és a jobb parietális ganglionokban; a válaszreakció ez esetben is a spontán aktív sejtek gátlása, vagy serkentése volt.

b) A viscerális ganglion több sejtje (V12, V13, V17), valamint a jobb parietális ganglion egy sejtje (RPa9) kettősen reagált a szív kemoreceptorainak ingerlésére: a kezdeti aktivitásfokozó hatást gátló fázis követte. Tartós ingerlés esetén e két fázis váltakozva jelent meg.

4. A vizsgált központi neuronok többsége egyaránt reagált a szív taktilis és kémiai ingerlésére, azonban a válasz a két ingerféleségre az esetek egy részében ellentétes volt. A kizárólag egyik ingerféleségre reagáló sejtek lehetnek elsődlegesen érző neuronok. Az a tény, hogy a sejtek többségének működését többféle perifériás bemeneti jel modulálja, diffúz eloszlási szabályozási rendszerek működésére utal.

5. A jobb parietális ganglion egy sejtjének (RPa9), valamint a viscerális ganglion két sejtjének (V12, V13) aktivitása és a szívidegről elvezetett aktivitás egyes komponensei között szoros korreláció mutatható ki. E sejtek a szívreflex központi neuronjai. A jobb parietális és viscerális ganglionok néhány más sejtje nincs direkt kapcsolatban a szív mechano- és kemoreceptoraiival, de más reflexkapcsolatok révén ezek is részt vesznek a szív efferens szabályozásában.

6. A központi neuronok depolarizálása és hiperpolarizálása révén interneuronokat is azonosítottunk. Kétféle típust találtunk: az egyik közvetlen szinaptikus potenciálok révén serkent vagy gátol olyan neuronokat, melyek a szívidegbe küldenek impulzusokat, a másik típus tartósabb hatást vált ki további interneuronok aktiválása révén. Ez esetben az intenzív aktiválás hosszabb ideig működő reverberációs kört indít, vagy olyan sejtet aktivál, mely pl. tartós transzmitter felszabadulással a hatás fennmaradását biztosítja a trigger sejt működésének megszűnte után is. Ez a fajta szabályozási mód biztosítja egyben a rendszer be, illetve átkapcsolását különböző üzemmódokra.

7. Egy interneuron (V21) jellegzetes kétfázisú aktivitási mintázattal rendelkezik, s ezen belül fázisos működése (burst kisülés) egybeesik az egyes szív ciklussal, míg tónusos működését mindig a szív gátlása kíséri. E sejt számos más szervből (perikardium, vese, véredények, máj) is serkentő bemenetet kap, s ezek mindegyike tónusosra váltja a sejt fázisos aktivitását, mely minden esetben a szív leállítását hozza létre, függetlenül a tónusos működést kiváltó bemenet jellegétől.

8. *Helix pomatia* szívműködésének központi szabályozása olyan neuronhálózat segítségével történik, mely többszörösen túlbiztosított, önálló szabályozó elemek soros kapcsolásán alapul, s a hálózatban pacemaker és vezérelt elemek egyaránt előfordulnak. A hálózat vezér-elemei a többhatású interneuronok csoportjába tartoznak.



## IRODALOM

- ARAKELOV, G. G.: (1973. Множественность ритмоводящих зон в нейронах виноградной улитки. — Нейрофизиология **5**, 88—94.
- BAILEY, D. F., M. S. LAVERACK: Aspects of the neurophysiology of *Buccinum undatum* L. (Gastropoda). *J. Exp. Biol.* **44**, 131—148 (1966).
- BAYLOR, D. A., J. G. NICHOLLS: Chemical and electrical synaptic connexions between cutaneous mechanoreceptor neurones in the central nervous system of the leech. *J. Physiol.* **203** 591—609 (1969).
- DEUTSCH, S.: Models of the nervous system. John Wiley and Sons, Inc. N. Y., London, Sydney (1967).
- DEVLEGER, T. A.: Postganglionic responses upon tactile stimulation in *Lymnaea stagnalis*. (L). *Neth. J. Zool.* **20**, 492—495 (1970).
- GORMAN, A. L. F., M. MIROLLI: The input-output organization of a pair of giant neurones in the Mollusc, *Anisodoris nobilis* (MacFarland). *J. Exp. Biol.* **51**, 615—634 (1969).
- GRUDEFEST, H.: The general electrophysiology of input membrane in electrogenic excitable cells. *Handbook of Sensory Physiology*. Vol. 1. Principles of Receptor Physiology, Chapter, **4**, pp. 135—165 (1971).
- HUGHES, G. M., L. TAUC: Aspects of the organization of central nervous pathways in *Aplysia depilans*. *J. Exp. Biol.* **38**, 45—69 (1962).
- KANDEL, E. R., D. GARDNER: The synaptic actions mediated by the different branches of a single neuron. *Neurotransmitters* **50**, 91—146 (1972).
- KISS, T., K. ELEKES: Myo-neural junctions in the ventricle of the snail *Helix pomatia* L. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.* **23**, 207—211 (1972).
- KOESTER, J., E. MAYERI, G. LIEBESWAR, E. R. KANDEL: Cellular regulation of homeostasis: neuronal control of the circulation in *Aplysia*. *Federation Proc.* **32**, 2177—2187 (1973).
- KOESTER, J., E. MAYERI, G. LIEBESWAR, E. R. KANDEL: Neuronal control of circulation in *Aplysia*. II. Interneurons. *J. Neurophysiol.* **37**, 476—496 (1974).
- KRIJGSMAN, B. J., G. A. DIVARIS: Contractile and pacemaker mechanism of the heart of Molluscs. *Biol. Rev.* **30**, 1—39 (1955).
- KUPFERMAN, I., E. R. KANDEL: Neural controls of a behavioural response mediated by the abdominal ganglion of *Aplysia*. *Science* **164**, 847—850 (1969).
- KUPFERMAN, I., H. PINSKER, V. CASTELUCCI, E. R. KANDEL: Central and peripheral control of gill movements in *Aplysia*. *Science* **174**, 1252—1256 (1971).
- KUWASAWA, K., R. B. HILL: Regulation of ventricular rhythmicity in the hearts of Prosobranch Gastropods. In: *Neurobiology of Invertebrates. Mechanisms of Rhythm Regulation* Ed.: J. Salánki, Akadémiai Kiadó, Budapest pp. 143—165 (1973).
- LEWIS, G. W., P. L. MILLER, P. S. MILLS: Neuro-muscular mechanisms of abdominal pumping in the Locust. *J. Exp. Biol.* **59**, 149—168 (1973).
- MAYERI, E., J. KOESTER, I. KUPFERMAN, G. LIEBESWAR, E. R. KANDEL: Neural control of circulation in *Aplysia*. I. Motoneurons. *J. Neurophysiol.* **37**, 458—475 (1974).
- MCKAY, A. R., A. GELPERIN: Pharmacology and reflex responsiveness of the heart in the giant garden slug, *Limax maximus*. *Comp. Biochem. Physiol.* **43A**, 877—896 (1972).
- MELLON, F.: Electrophysiology of touch sensitive neurons in a Mollusc. *J. Comp. Physiol.* **79**, 63—78 (1972).
- MENG, K.: 5-Hydroxytryptamine und Acetylcholine als Wirkungsantagonisten beim *Helix-Herzen*. *Naturwissenschaften* **19**, 470—481 (1958).
- MULLONEY, B., A. I. SELVERSTON: Organization of stomatogastric ganglion of the spiny lobster. I. Neurons driving the lateral teeth. *J. comp. Physiol.* **91**, 1—32 (1974a).
- MULLONEY, B., A. I. SELVERSTON: Organization of stomatogastric ganglion of the spiny lobster III. Coordination of the two subsets of Gastric system. *J. comp. Physiol.* **91**, 53—78 (1974b).
- PITMAN, R. M., C. D. TWEEDLE, M. J. COHEN: Intracellular cobalt injection for light and electron microscopy. *Science* **176**, 412—414 (1972).
- PERETZ, B.: Central neuron inhibition of periodic gill movements. *Science* **166**, 1167—1172 (1969).
- RIPPLINGER, J.: Contribution à l'étude de la physiologie du cœur et son innervation extrinsèque chez l'escargot (*Helix pomatia*). *Ann. Sci. l'Université de Besançon, 2me Série, Zool. Physiol.* **8**, 3—179 (1957).
- S.-RÓZSA, K., C. GRAUL: Is serotonin responsible for the stimulative effect of the extracardiac nerve in *Helix pomatia*? *Annal. Biol. Tihany* **31**, 85—96 (1964).
- S.-RÓZSA, K., L. PERÉNYI: Chemical identification of the excitatory substance released in *Helix* heart during stimulation of the extracardiac nerve. *Comp. Biochem. Physiol.* **19**, 105—113 (1966).



- S.-RÓZSA, K., I. ZS.-NÁGY: Physiological and histochemical evidence for neuroendocrin regulation of heart activity in the snail *Lymnaea stagnalis* L. *Comp. Biochem. Physiol.* **23**, 373—382 (1967).
- S.-RÓZSA, K.: Characterization of the feed-back system in the heart of *Helix pomatia* L. *Annal. Biol. Tihany* **39**, 29—38 (1972).
- S.-RÓZSA, K., T. KISS, I. V. SZŐKE: On the role of bioactive substances in the rhythm regulation of heart muscle cells of Gastropoda and Insecta. In: *Neurobiology of Invertebrates. Mechanisms of Rhythm Regulation*. Ed.: J. Salánki, Akadémiai Kiadó, Budapest pp. 67—181 (1973).
- S.-RÓZSA, K., J. SALÁNKI: Single neurone responses to tactile stimulation of the heart in the snail, *Helix pomatia* L. *J. comp. Physiol.* **84**, 267—279 (1973).
- SAKHAROV, D. A., J. SALÁNKI: Physiological and pharmacological identification of system of *Helix pomatia* L. *Acta physiol. Acad. Sci. Hung.* **35**, 19—30 (1969).
- SALÁNKI, J.: Studies on the effect of iontophoretically applied l-glutamate on the giant nerve cells of Gastropoda (*Helix* and *Lymnaea*). *Annal. Biol. Tihany* **35**, 75—81 (1968).
- SALÁNKI, J.: Serotonin in the neural regulation of the Bivalve Mollusc *Anodonta cygnea* L. *Recent Developments of Neurobiology in Hungary III*. Ed.: K. Lissák, Akadémiai Kiadó, Budapest pp. 67—89 (1972).
- SALÁNKI, J., I. VADÁSZ, K. ELEKES: Physiological and morphological characteristics of Br-type neuron in the central nervous system of the snail *Helix pomatia* L. *Acta physiol. Acad. Sci. Hung.* **42**, 243—254 (1972).
- SALÁNKI, J., I. VADÁSZ, M. VÉRÓ: Temperature dependence of the activity pattern in Br-type cell of the snail *Helix pomatia* L. *Acta physiol. Acad. Sci. Hung.* **43**, 115—124 (1973).
- SELVERSTON, A. I., B. MULLONEY: Organization of the stomatogastric ganglion of the spiny lobster II. Neurons driving the medial tooth. *J. comp. Physiol.* **91**, 33—51 (1974).
- TAUC, L., G. M. HUGHES: Modes of initiation and propagation of spikes in the branching axons of molluscan central neurons. *J. Gen. Physiol.* **46**, 533—549 (1963).
- TAUC, L.: Transmission in invertebrate and vertebrate ganglia. *Physiol. Rev.* **47**, 521—593 (1967).
- TAUC, L.: Transmission action on synaptic neuronal receptor membranes. *Handbook of Sensory Physiology*. Vol. 1. Principles of Receptor Physiology. Ed.: W. R. Loewenstein, Springer-Verlag, Berlin, Chapter 3, pp. 103—134 (1971).
- VÉWÓ, M.: Negative capacitance amplifier for microelectrode investigations. *Annal. Biol. Tihany* **38**, 107—115 (1971).
- WEEVERS, R. G.: A preparation of *Aplysia fasciata* for intrasomatic recording and stimulation of single neurons during locomotor movements. *J. Exp. Biol.* **54**, 659—676 (1971).
- WELSH, J. H.: Catecholamines in the Invertebrates. *Handbook of Experimental Pharmacology*, Vol. 33, Chapter 4, pp. 79—110 (1972).
- WIERSMA, C. A., K. IKEDA: Interneurons commanding swimmer movements in the *Procambarus clarkii* (Girard). *Comp. Biochem. Physiol.* **12**, 509—525 (1964).
- WILLOWS, A. O. D., G. HOYLE: Correlation of behaviour with the activity of single identifiable neurons in the brain of *Tritonia*. In: *Neurobiology of Invertebrates*, Ed.: J. Salánki, Plenum Press, New York and Akadémiai Kiadó, Budapest pp. 443—461 (1968).