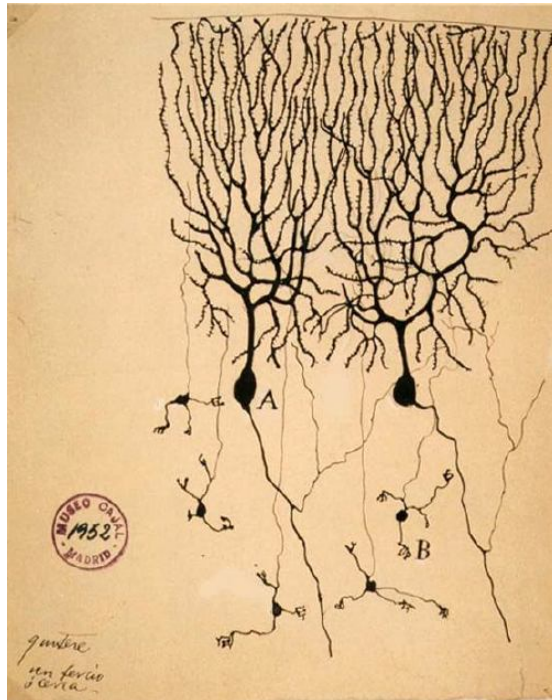


Az idegsejtek diverzitása

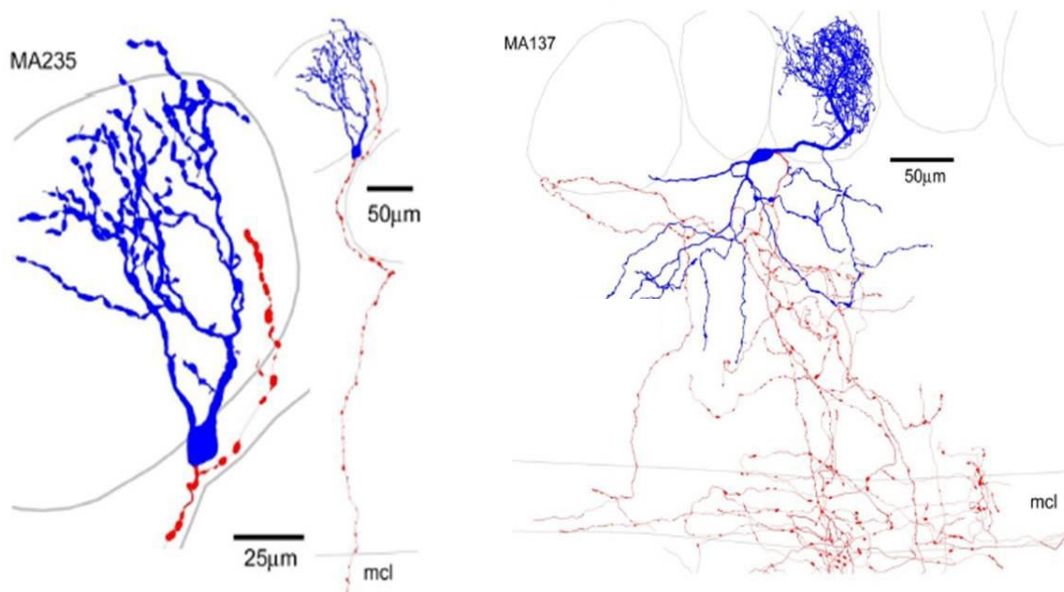
Készítette Dr. Nusser Zoltán előadása és megadott szakirodalma alapján
Walter Fruzsina II. éves PhD hallgató

A neurobiológia hajnalán az első idegtudománnyal foglalkozó kutatók a neuronokat morfológiai alapon különítették el: az axon hossza, a dendritfa felépítése vagy a szóma alakja alapján (1. ábra).



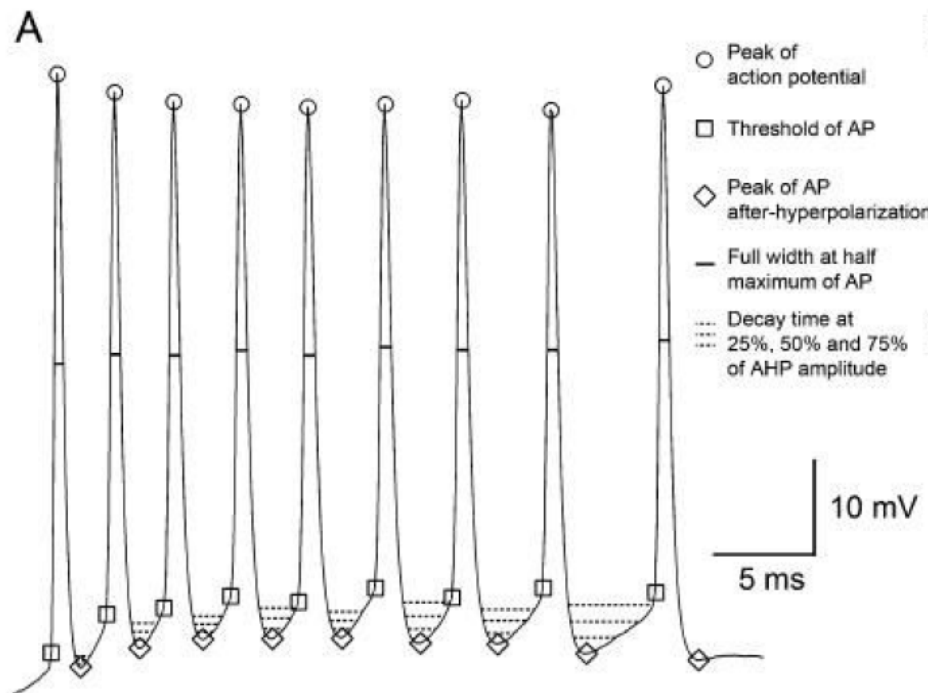
1.ábra: Kisgyei purkinje sejtek és szemcsesejtek, Ramón y Cajal, 1899

Az idegsejtek alapvető jellemzői közé tartozik nagy térbeli kiterjedésük (akár 1mm), hatalmas sejt felszínük (akár 1 mm²) valamint több tízezer bemeneti és kimeneti szinapszis jellemzi őket, amelyek többféle sejtípussal való kapcsolatot tesznek lehetővé. A morfológiai vizsgálatok során (példa 2. ábra) mérhető a dendritek elágazásainak száma, azok vastagsága, elvékonyodásuk mértéke, az elágazásokban részt vevő ágak egymással bezárt szöge, az egyes elágazódási csoportok nagysága vagy akár az egyes szakaszok lefutásának kanyargóssága is.



2. ábra: A bulbus olfactoriusban található külső ecsetsejtek morfológiailag két csoportra oszthatók fel. A kétféle sejt közötti legfőbb különbség, hogy MA235 esetén a külső plexiform rétegben bazális dendritok nem voltak felfedezhetők. Azonban mindkét sejtpopuláció esetén egyes sejtek között igen nagy morfológiai variabilitás volt megfigyelhető.

Számos kategória áll rendelkezésünkre az idegsejtek további jellemzésére és ezek alapján csoportokba való besorolására. A morfológiai elkülönítés mellett molekuláris jellemzőik alapján is lehetséges kategóriákba való besorolásuk: transzkripciós faktorok, receptoraik, sejtfelszín-specifikus molekulák, transzportfehérjék, neurotranszmitterek szerint. Élettani tulajdonságaikat figyelembe véve az akciós potenciál lefutásának jellemzői (példa 3.ábra), tüzelési mintázat (gyorsan tüzelő – adaptálódó, nem adaptálódó; nem szabályosan tüzelő; szabályosan tüzelő; gyorsuló-tüzelő mintázat) vagy akár a sejt feszültségjellemzői alapján is állíthatunk fel csoportokat. Elméletileg, ha fehérjéket tekintve a fehérje kifejeződésére vagy hiányára koncentrálunk az alap neuronális morfológiai felosztáson (axonterminális, axon iniciális szegment, szóma, dendritfa, dendrittüskék) túl, és a fehérjék térspecifikus jelenléte megvalósul (pl. ioncsatornák), akkor is már igen nagyszámú csoportosítási felosztással kell dolgoznunk. Ha pedig figyelembe vesszük, hogy egy átlagos hippocampális piramissejten akár két tucat morfológiailag elkülöníthető részt nevezhetünk meg, a lehetséges létrehozható kombinatorikai csoportok száma hatalmas.



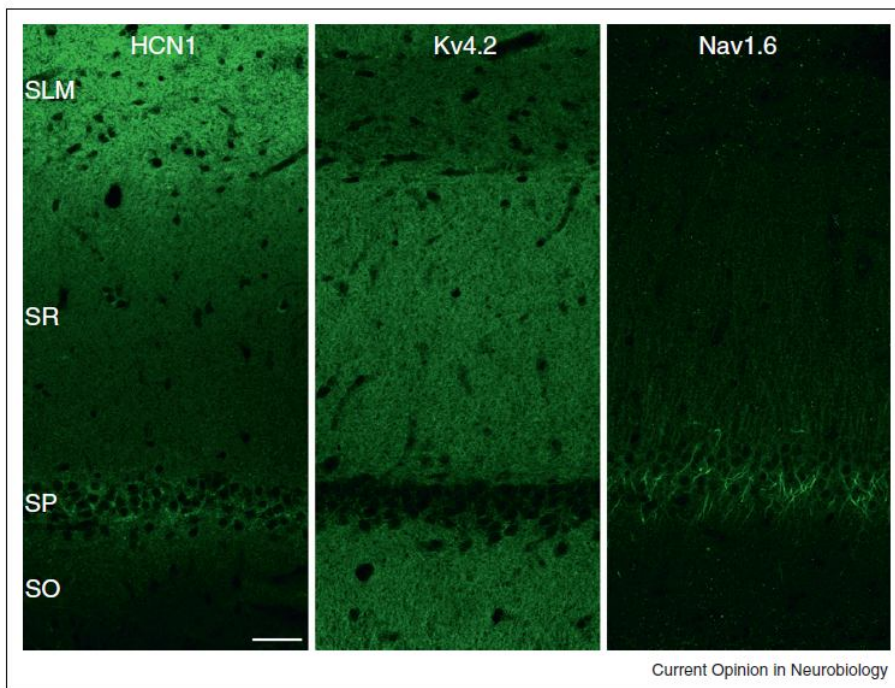
3. ábra: A bulbus olfactoriusban elhelyezkedő külső ecsetsejtek jellemzése az akciós potenciálok lefutása alapján. Az akciós potenciál köszűbszintje, csúcsértéke, utó-hiperpolarizáció utáni értéke, az akciós pontenciál felénél található spike és az utóhiperpolarizáció különböző szakaszainak szélessége (idő), mind a jellemzés eszközei.

Az elmúlt évtizedekben nagy figyelem fordult a feszültségfüggő ioncsatornák molekuláris felépítésének feltérképezésére. Az idegsejtek fő jellemzésére, és a felépítésük heterogenitásának meghatározására így főleg a sejt által expresszált ioncsatornákat használták. Azonban ezen csoportosítás alapján az csatornák tekintetében a molekuláris felépítés is egy fő szempont, de a további biofizikai és biológiai jellemzéshez és csoportosításhoz elengedhetetlen a csatornák sejteken belüli és sejt felszíni eloszlásának a figyelembe vétele. A legújabb nagy feloldóképességű képalkotási módszerek megmutatták, hogy az ioncsatornák összetett, sejten belüli kompartment specifikus eloszlást mutatnak. Így mivel minden sejten belül más az eloszlás és minden sejt felszínén egyedi a csatornák megjelenése és csoportosulása, az idegsejtek kapcsolódásának és hálózataalkotó, kommunikációs képességének komplexitása ugrásszerűen megnő.

Már majdnem két évtizede létezik a patch clamp módszere, amely lehetővé teszi, hogy a sejt egy bizonyos kisebb egységének működéséről (axon iniciálisról, apikális dendritekről) nyerjünk

információt. Azonban ez a módszer nem ad lehetőséget az ioncsatorna molekuláris jellemzésére, nem teszi lehetővé a csatorna alegységeinek meghatározását. Ennek vizsgálatára az alegység-specifikus immunhisztokémiai valamint az elektronmikroszkópiához használt aranyszemcsékkel való jelölés kiegészítőként van jelen a vizsgálatokban. A molekuláris, elektrofiziológiai és képalkotó eljárások kombinációja képes csak együtt feltárni az ioncsatornák összes tulajdonságát, amely alapján egy határozott csoportosítás hozható létre.

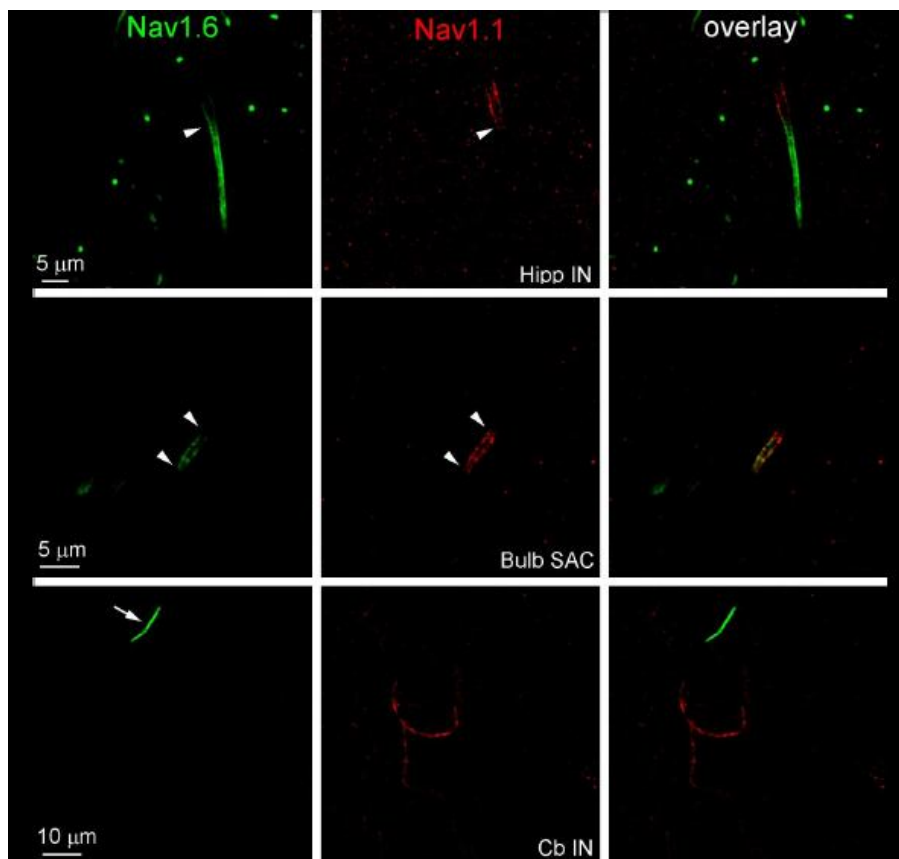
Az csatornák egy specifikus régióban megtalálható sejteken való különböző elhelyezkedésére jó példa az immunhisztokémiai festéssel a hippocampusban vizsgált három különböző ioncsatorna CA1-es régió belül található eltérő eloszlása (4. ábra). A hiperpolarizáció aktiválta vegyes kation áram (I_h) fő közvetítője a HCN1/2 ioncsatorna alegységek; a tranzien K⁺-áramot (I_a) vezető fő ioncsatorna alkotója a Kv4.2; valamint a feszültségfüggő Na⁺-csatorna (Nav) egy alegysége a Nav1.6.



4. ábra: A HCN1 főleg a dendritek apikális szegmentumában fordul elő, a képen a festés intenzitása a stratum lacunosum moleculareban (SLM) nő meg. A Kv4.2 jelölődése egységes a stratum radiatumban (SR), de az SLM-ben ez az intenzitás jelentősen lecsökken. A Nav1.6 jelenléte az axon iniciális szegmentumára jellemző, így a képen a stratum pyramidale (SP) körül láthatunk éles festődést.

Ezt a gondolatmenetet követve lehetőség van egy bizonyos ioncsatorna-alegység különböző sejtípusokban való lokalizációjára. Különböző vizsgálatok kimutatták, hogy a HCN1 alegység a piramissejtekben az axon iniciálisokban, a külső ecsetsejtekben az egész neuron felületén, a hippocampális kosársejtekben az axonterminálisokon, a kisgyi kosársejtekben pedig alacsony szinten az egész sejt felületén, majd magasabb denzitással az axonterminálisokon található meg.

A Nav két alegységére végzett jelölést követően a Nav1.6 CA3 hippocampális interneuronokban az axon mentén, a Nav1.1 az axon iniciálison fordul elő, tehát a két típus különvált az axon iniciálisnál. A bulbus olfactoriusban egy a rövid axonú sejtek közé tartozó neuron teljes axon iniciálisán mindkét típusú festődés megtalálható. A kisgyi stratum moleculare kosársejtjein a Nav1.6 az axon iniciálison található meg, míg a Nav1.1 a sejtek axonijainak axon iniciálison kívül eső részein (5. ábra).



5.ábra: A Nav1.6 és a Nav1.1 elhelyezkedése különböző sejtípusokon. (Hipp IN – hippocampális interneuron; Bulb SAC – rövid axonú sejt a bulbus olfactoriusban; Cb IN – cerebelláris interneuron)

Az új módszerek alkalmazása lehetővé teszi a funkcionális és molekuláris diverzitás növelésének egy új módját. Elmondhatjuk, hogy a sejtípus-specifikus ioncsatorna lokalizáció növeli a neuronok diverzitását, így minél több ioncsatornára, alegységre, sejtípusra terjesztjük ki ezt a fajta vizsgálati szemléletet, annál komplexebb tudásunk lehet az idegrendszerben zajló folyamatok működéséről.

Felhasznált irodalom:

Nusser Z. Differential subcellular distribution of ion channels and the diversity of neuronal function. *Current opinion in Neurobiology*. 2011.

Nusser Z. Variability in the subcellular distribution of ion channels increases neuronal diversity. *Trends in Neurosciences*. 2009.

Antal M., Eyre M., Finklea B., Nusser Z. External tufted cells in the main olfactory bulb form two distinct subpopulations. *European Journal of Neuroscience*. 2006.