

ANDRZEJ WRÓBEL

Funkcjonalna analiza potencjałów wywołanych w korze czuciowej szczura

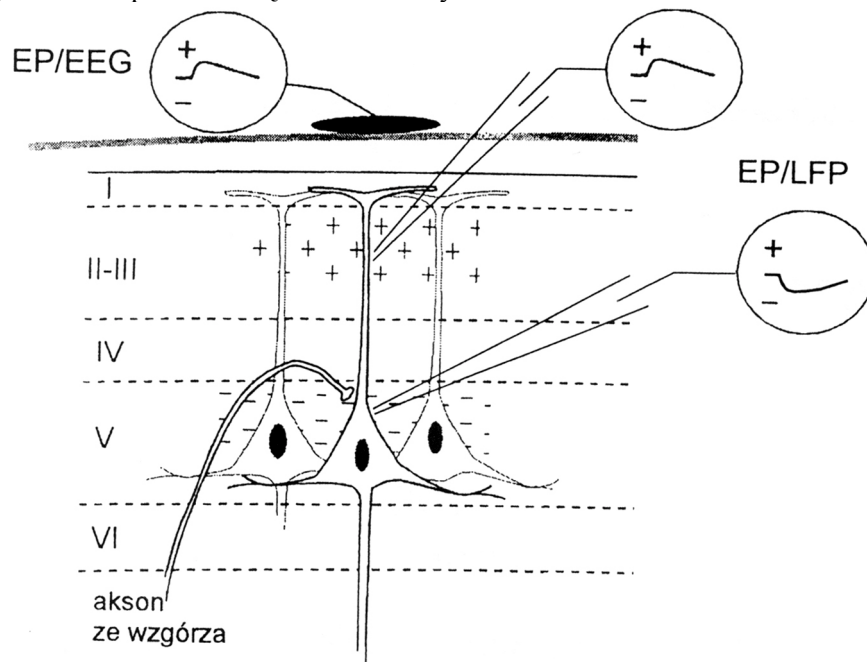
Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie

Źródła potencjałów polowych

Czynność elektryczną jako przejaw aktywności mózgu zarejestrowano po raz pierwszy pod koniec XIX wieku (Caton 1877; Beck 1891) i do dziś nie wynaleziono metody badawczej, która miałaby lepszą zdolność rozdzielczą w czasie. Przez długie lata potencjały polowe (czynność elektroencefalograficzna rejestrowana z powierzchni skóry czaszki – EEG lub z elektrod wewnątrz-mózgowych w postaci tzw. lokalnych potencjałów polowych, od ang. local field potentials - LFP oraz potencjałów wywołanych, od ang. evoked potentials - EP) służyły do opisu funkcji i dysfunkcji mózgu w warunkach klinicznych. Jednym z ograniczeń w szerszym stosowaniu wolnych potencjałów polowych w diagnostyce była trudność interpretacji spowodowana nieznanymi mechanizmami generującymi te sygnały w skomplikowanej sieci neuronów kory mózgu. Ostatnie lata przyniosły znaczny postęp w tym względzie. Opisano podstawowe mechanizmy fizykochemiczne oraz źródła fizjologiczne rejestrowanych potencjałów polowych, a nowe metody analizy matematycznej pozwalają coraz lepiej wyróżnić ich czynniki składowe.

We współczesnej elektroencefalografii przyjmuje się, że potencjały polowe obrazują zbiorcze pole elektryczne wywołane przez prądy płynące w środowisku zewnątrzkomórkowym pod wpływem wolnej aktywności postsynaptycznej wszystkich komórek kory (Martin 1991; Wróbel 1997). Aby zrozumieć złożony sygnał elektryczny w korze mózgu, należy zidentyfikować wkład pochodzący od wielu grup podobnych neuronów. Na amplitudę potencjałów odbieranych przez elektrody wewnątrzczaszkowe wpływa przede wszystkim sumaryczna aktywność postsynaptyczna w komórkach piramidalnych. Wynika to z faktu, że są one ułożone równolegle do siebie, a ich dendryty szczytowe kierują się prostopadle do powierzchni kory, tworząc podczas pobudzenia wy-

rażnie zorientowane dipole elektryczne (ryc. 1). Większość komórek niepiramidalnych zawiera dendryty promieniście rozchodzące się od ciała komórki i generowane na nich pole elektryczne jest słabo rejestrowane przez zewnętrzne elektrody.



Ryc. 1. Potencjał wywołany, rejestrowany przez elektrodę umieszczoną w środowisku zewnątrzkomórkowym (zależy od głębokości, na której pojawia się synchroniczna aktywność synaptyczna w korze)

Bodziec sensoryczny (np. poruszenie węża na pyszczku szczura) aktywuje synchronicznie wiele komórek kory mózgu. Rycina 1 przedstawia chwilowe pole elektryczne wywołane pobudzeniem komórek kory przez aferentne aksony ze wzgórza. W trakcie pobudzenia, w okolicy zakończeń synaptycznych następuje zwiększenie przepuszczalności błony komórek postsynaptycznych i powstanie dokomórkowego prądu jonów dodatnich wywołanego ujemnym potencjałem wewnątrz neuronów. Z powodu ubytku jonów dodatnich w przestrzeni zewnątrzkomórkowej elektroda umieszczona w okolicach pobudzonych synaps rejestruje zmniejszenie potencjału (dolne kółko z prawej strony na ryc. i; por. również falę Ni na ryc. 2A), a elektroda w okolicy dendrytów szczytowych jego względne zwiększenie (ryc. 1, górne kółko z prawej strony).

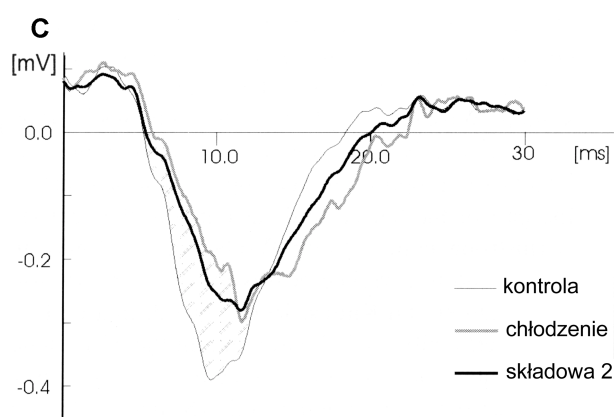
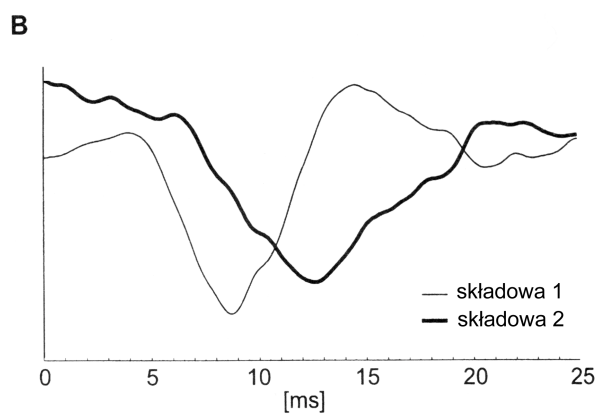
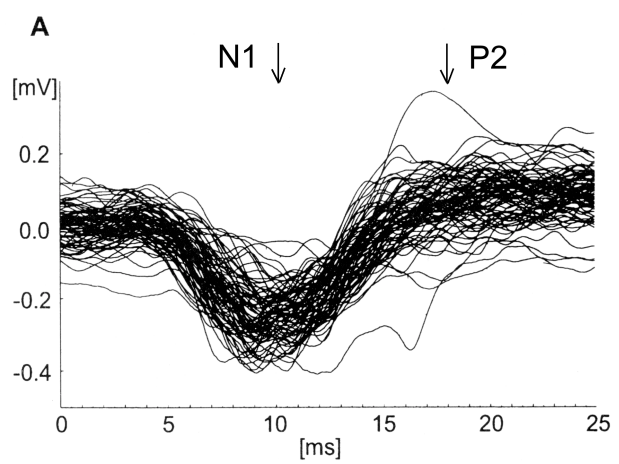
W miarę pobudzenia kolejnych grup neuronów w innych warstwach i kolumnach kory rejestrowany potencjał zmienia się (ryc. 2, 4). Znak odbieranej w danej chwili fali zależy od tego, na jakiej głębokości w korze znajdują się

pobudzane synapsy i jak daleko od pobudzonej grupy komórek znajduje się elektroda rejestrująca. W zależności od zmieniającej się częstotliwości iglic dochodzących do określonego miejsca kory ze wzgórza lub okolic sąsiednich, wokół komórek piramidalnych różnych warstw płyną mniejsze lub większe prądy. Im bardziej synchroniczna jest aktywność wejściowa i im więcej komórek jest pobudzonych jednocześnie, tym większą falę potencjału rejestrują elektrody pomiarowe. Sam kształt potencjału wywołanego nie pozwala więc określić, leżących u jego podstaw, złożonych procesów korowych.

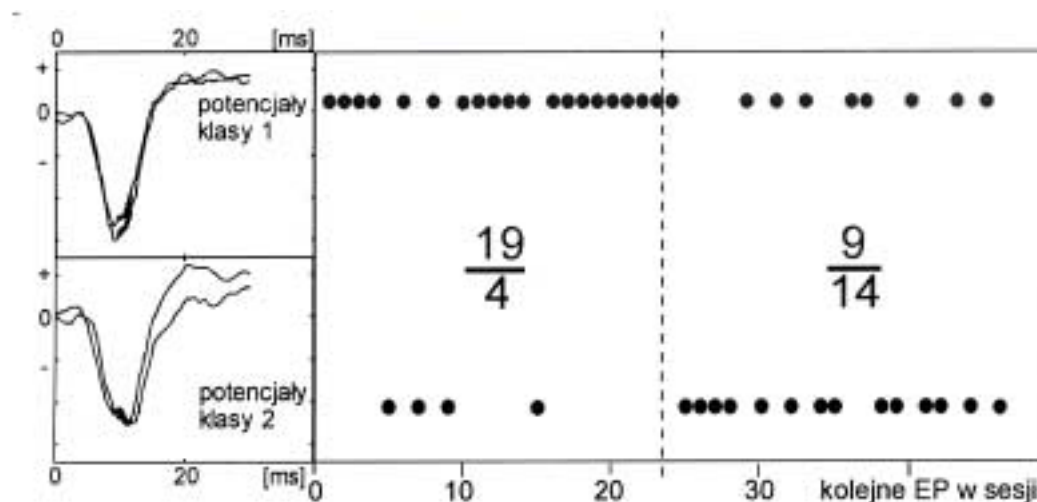
Potencjały w korze czuciowej szczura wywołane poruszeniem wibryssy

Rycina 2 przedstawia potencjały wywołane poruszeniem wibryssy szczura zarejestrowane na głębokości warstwy czwartej pierwszorzędowej kory czuciowej (tzw. kory baryłkowej, por. Kublik i Musiał 1997). W typowym zapisie z elektrody chronicznie zaimplantowanej w korze nieuśpionego zwierzęcia (ryc. 2A) widać zawsze dwie duże fale: ujemną N₁ (z maksimum 9–12 ms po stymulacji) i dodatnią P₂ (18–25 ms). W celu zlokalizowania źródeł obu fal można zarejestrować potencjały wywołane na różnych głębokościach kory i zanalizować je metodą gęstości źródłowej prądu (ang. current source density analysis - CSD) i następnie określić kształt składowych głównych (ang. principal component analysis - PCA). Analiza taka jest jednak wyjątkowo trudna do przeprowadzenia u swobodnie poruszających się zwierząt. W celu wyróżnienia obu składowych w czasie doświadczenia z warunkowaniem klasycznym wykorzystaliśmy zmienność kształtu kolejnych potencjałów wywoływanych cyklicznie, co kilkadziesiąt sekund (ryc. 2A; Musiał i współpr. 1998). Przeprowadzona analiza PCA wykazała, że kombinacja dwu pierwszych głównych składowych (ryc. 2B) pozwala wytłumaczyć ok. 70% zmienności kształtu kolejnych potencjałów wywołanych u nieuśpionych zwierząt (i ok. 90% zmienności u zwierząt w narkozie). Obie wyliczone składowe różnią się zarówno latencją, jak i przebiegiem, co pozwala przypuszczać, że odpowiadają różnym grupom komórek (por. ryc. 4). Stosując przejściowe chłodzenie powierzchni kory, które wstrzymuje w pierwszej kolejności aktywność komórek nadziarnistych, stwierdziliśmy, że procesowi temu towarzyszy zniknięcie krótkolatencyjnej składowej potencjału wywołanego (ryc. 2C). Wyniki tego doświadczenia dowiodły, że obje składowe EP: krótko- i długolatencyjna, reprezentują aktywację odpowiednio nad- i podziarnistych grup komórek piramidalnych kory czuciowej (Kublik i współpr. 2001).

Tak przeprowadzona analiza potencjałów wywołanych pozwoliła nam określić stan pobudzenia różnych grup neuronów piramidalnych (nad- i pod-



ziarnistych) w kolejnych etapach warunkowania klasycznego. Stwierdziliśmy, że potencjały, w których przeważała krótkolatencyjna składowa główna dają się wyróżnić analitycznie w oddzielną klasę (klasa 1). Znaczna przewaga liczby EP klasy 1, charakteryzuje prawdopodobnie, niewzbudzony stan kory czuciowej. Potencjały te rejestrowaliśmy bowiem znacznie częściej tuż przed warunkowaniem, po wielodniowej habituacji zwierzęcia (i odpowiedzi kory) do poruszania wibryssą. Wzmocnienie stymulacji wibryssy awersyjnym bodźcem klasycznym (słaby prąd elektryczny podawany na ucho) wywoływało natychmiastowy wzrost udziału drugiej składowej w potencjale wywołanym, przez co rejestrowane EP zmieniały kształt i były zaliczone do oddzielnej klasy 2 (ryc. 3). Zmiana kształtu potencjałów wywołanych rejestrowanych w korze czuciowej spowodowana działaniem awersyjnych bodźców warunkowych wynika ze zmiany rozkładu źródeł prądu, a więc, najprawdopodobniej, ilustruje zmianę przetwarzania informacji aferentnej.

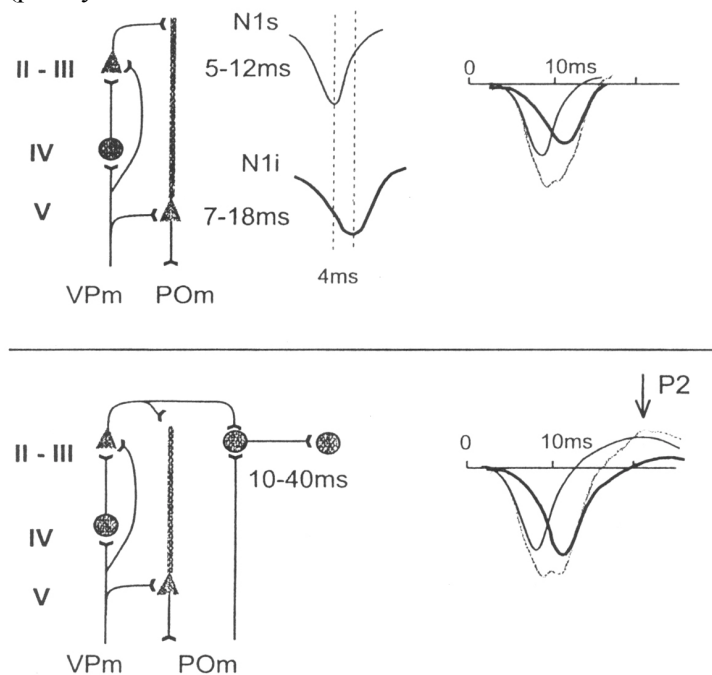


Ryc. 3. Klasyfikacja potencjałów wywołanych w sesji doświadczalnej, w czasie której po 24. poruszeniu wibryssy każde następne wzmocniano bodźcem awersyjnym. Kolejne punkty odpowiadają potencjałom wywołanym zaklasyfikowanym do jednej z dwu klas (z lewej) wyróżnionych na podstawie amplitudy subkomponent fali Ni. Przerywana linia zaznacza chwilę, od której kolejne poruszenia wibryssy wzmocniano awersyjnym bodźcem skierowanym na ucho zwierzęcia. Od tego momentu notuje się również zmianę częstotliwości występowania obu klas potencjałów. W uśrednionych potencjałach obu klas w sytuacji kontrolnej i warunkowanej grubszą linią zaznaczono fragmenty EP, na podstawie których wyróżniono obie klasy

Ryc. 2A – kolejne 87 potencjałów wywołanych drażnieniem wibryssy w korze baryłkowej nie-uśpionego szczura oraz otrzymane na ich podstawie dwie pierwsze składowe główne – B. C – kontrolny, średni potencjał wywołany (n = 20) rejestrowany z kory czuciowej śpiącego szczura przed i po chłodzeniu jej powierzchni. Grubą linią zaznaczono drugą składową EP, która powinna zostać nienaruszona po zniknięciu składowej reprezentującej aktywność nadziarnistych komórek piazmidalnych

Przetwarzanie informacji w korze czuciowej

Opisane wcześniej doświadczenia pozwoliły nam zaproponować hipotezę dotyczącą mechanizmu regulującego przetwarzanie informacji czuciowej w zależności od środowiskowych bodźców kontekstowych (np. awersyjnych). Hipoteza ta zakłada, że zmiana stanu aktywności kory czuciowej jest wynikiem wzbudzenia układów modułujących pnia mózgu (np. cholinergicznego i/lub noradrenergicznego), które aktywują podprogowo wszystkie komórki kory czuciowej (McCormick 1992). Nasze doświadczenia na uśpionych zwierzętach wykazały, że drażnienie elektryczne jądra podstawnego rzeczywiście powoduje wzrost amplitudy i częstotliwości pojawiania się potencjałów wywołanych klasy 2, podobnie jak po wzbudzeniu kory czuciowej bodźcami kontekstowymi (Wróbel i Kublik 2000). W proponowanym modelu wejście ze wzgórza, wzmocnione dzięki działaniu neuromodulatorów w sieci komórek kory (por. ryc. 4. dolna



Ryc. 4. Hipoteza bramkowania informacji o bodźcu czuciowym w kolumnie kory baryłkowej szczura. **Górna część** - piramidalne komórki nadziarniste są pobudzane w warstwach II i III przez aksony biegnące ze wzgórza oraz przez komórki gwiaździste warstwy IV, co odzwierciedla składowa N1s potencjału wywołanego. Składowa N1i reprezentuje aktywację podziarnistych komórek piramidalnych warstwy V, które są pobudzane przez kolaterale aferentów ze wzgórza oraz przez komórki nadziarniste. **Dolna część** - bodziec awersyjny powoduje wzrost pobudliwości wszystkich komórek kory przez ich podprogową depolaryzację. Zwiększona aktywność komórek piramidalnych obu warstw sumuje się ostatecznie na komórkach podziarnistych, które aktywują wzgórzowe jądro POm, a przez nie - neurony przegrody, otwierając bramkę przepływu informacji do kolumn sąsiednich. Potencjały wywołane w pobudzonej korze sensorycznej mają zwiększoną amplitudę fali P2, która ilustruje pobudzenie sąsiednich kolumn kory

część), wywołuje znaczne pobudzenie synaptyczne w komórkach podziarnistych, widoczne jako wzrost drugiej komponenty EP. Duża aktywacja piramidalnych komórek podziarnistych mogłaby dalej (przez pętlę korowo-wzgórzowo-korową z udziałem jądra POm) wywoływać pobudzenie komórek przegrody na granicy kolumn kory baryłkowej (ryc. 4; Diamond i współpr. 1992). Aktywacja komórek septalnych ułatwia z kolei przekazanie informacji o bodźcu do sąsiednich kolumn kory baryłkowej celem dalszej analizy. Opisany mechanizm bramkowania w nowej sytuacji kontekstowej może zmieniać zasadniczo przetwarzanie informacji w pętli wzgórzowo-korowej, prowadząc do funkcjonalnych zmian w procesie percepcji.

Functional analysis of evoked potentials in rat's sensory cortex

In the barrel cortex of behaving rat potentials evoked to vibrissa stimulation are composed from two main principal components which can be attributed to activation of two pyramidal cell populations: supra- and infragranular. The classical aversive stimulus favors the appearance of EPs dominated by a component characteristic of infragranular cells. We hypothesize that neuromodulatory action elicited by contextual stimulation activates all involved cortical neurons which results in opening the transmission gate to the surrounding columns.

Piśmiennictwo

- BECK A. 1891: Oznaczenie lokalizacji w mózgu i rdzeniu za pomocą zjawisk elektrycznych. Rozpr. Akad. Um. Wydz. Mat.-Przyr. Ser. II, 1:187—232.
- CATON R. 1875: The electric currents of the brain. Brit. Med. J. 2: 278.
- DIAMOND M.E., ARMSTRONG-JAMES M., BUDWAY M.J., EBNER F.F. 1992 Somatic sensory responses in the rostral sector of the posterior group (POm) and in the ventral posterior medial nucleus (VPM) of the rat thalamus: dependence on the barrel field cortex. J. Comp. Neurol. 319: 66—84.
- KUBLIK E., MUSIAŁ P. 1997: Badanie układów czuciowych metodą potencjałów wywołanych. Kosmos 46: 327—336.
- KUBLIK E., MUSIAŁ P., WRÓBEL A. 2001: Identification of principal components in cortical evoked potentials by brief surface cooling. Clin. Neurophys. 112: 1720—1725.
- MCCORMICK D.A. 1992: Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamo-cortical activity. Prag. Neurobiol. 39: 337—388.
- MUSIAŁ P., KUBLIK E., WRÓBEL A. 1998: Spontaneous variability reveals principal components in cortical evoked potentials. Neuroreport 9: 2627—2631.
- MARTIN J.H. 1991: The collective electrical behavior of cortical neurons: the electroencephalogram and the mechanisms of epilepsy. In: E. Kandel i J.H. Schwartz (red.), Principles of Neural Science. Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut, 1137.
- WRÓBEL A. 1997: Zbiorcza aktywność elektryczna mózgu. Kosmos 46: 317—327.
- WRÓBEL A., KUBLIK E. 2000. Modification of evoked potentials in the rat's barrel cortex induced by conditioning stimuli. In: M. Kossut (red.), The barrel cortex. Graham Publ. Corp. Johnson City, TN, 229—239.

Adres Autora:
Instytut Biologii Doświadczalnej
im. M. Nenckiego PAN
ul. Pasteura 3
02-093 Warszawa