Archive of SID

طرح زمانی پاسخ نورونهای کالیکولوس تحتانی به صوت خالص

دکتر علی نسیمی*، دکترآدریان ریز**

چکیده:

با توجه به اینکه بین طرح زمانی پاسخ (Post-stimulus time histogram=PSTH) نورونها و عملکرد فیزیولوژیک آنان ارتباط تنگاتنگی وجود دارد و طرح پاسخ نورونها در کالیکولوس تحتانی (هسته بزرگ شنوایی در مغز میانی) به طور کامل مشخص نبود، این مطالعه در جهت شناسایی و تقسیم بندی دقیق طرحهای پاسخ به صوت خالص ورودی از گوش مقابل انجام گرفت. مطالعه بر روی خوکچه هندی و با روش ثبت پتانسیل عمل خارج سلولی انجام پذیرفت. تعداد ۲۱۶ نورون مورد مطالعه قرار گرفت، که ۸۰ درصد آنان در هسته مرکزی کالیکولوس تحتانی قرار داشتند. طرحهای پاسخ اصلی شامل این موارد بودند: Chopper (که دارای یک وقفه در پاسخ‌اند)، On-sustained (که به شروع و دوام تحریک پاسخ می‌دهند)، Sustained (که فقط به دوام تحریک پاسخ می‌دهند)، Onset (که فقط به شروع تحریک پاسخ می‌دهند) و Off (که پاسخ مهاری کامل به تحریک صوتی می‌دهند). این گروههای اصلی خود به زیر گروههای متعددی تقسیم شده‌اند. همچنین مکانیسم پاسخها و نقش فیزیولوژیک محتمل آنان با توجه به مطالعات دیگر مورد کنکاش قرار گرفت.

واژه های کلیدی: PSTH، طرح پاسخ، ثبت خارج سلولی، کالیکولوس تحتانی

مقدمه:

برای درک حسی پدیده‌ها، مراحل متعددی از اعمال عصبی انجام می‌گیرد از جمله:

- تبدیل محرک خارجی به سیگنال‌های عصبی توسط گیرنده‌های حسی
- تجزیه و تحلیل اطلاعات حسی از زوایای مختلف در مراکز میانه عصبی و کرتکس
- ترکیب و جمع بندی اطلاعات حسی در مراکز عالی کرتکس و ایجاد درک جامع حسی
- مرتبط کردن درک جامع حسی با حافظه، عواطف و حواس دیگر و ایجاد درکی چند جانبه، چند حسی، عاطفی و منطقی از شیء مورد توجه (۳،۱۳). جهت آنالیز اطلاعات حسی، هر دسته از سلولهای حسی و مراکز و هسته‌های مغزی در ساقه مغز و بعضی مراکز اولیه کرتکس، به وجه یا جهت خاصی از محرک خارجی پاسخ می‌دهند. برای مثال در شبکیه، بعضی سلولها به رنگ‌های اصلی سه‌گانه، عده‌ای دیگر به نور و روشنایی صحنه و بعضی به خطوط و مرزها و تعدادی به حرکات پاسخ می‌دهند (۱).

*استادیار گروه فیزیولوژی - دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد (مؤلف مسئول)

**دانشیار گروه فیزیولوژی - دانشگاه نیوکاسل انگلستان

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز اطلاعات شنوایی نیز از سطح حلزون گوش داخلی شروع می‌شود (که فرکانس اصوات تجزیه می‌گردد) و در تمام مراکز متعدد چندگانه مسیر شنوایی تا کرتکس ادامه پیدا می‌کند. در این مسیر مراکز مختلف، ویژگیهای متفاوت صوتی مانند شدت صوت، جهت صوت، طرحهای فرکانسی صوت و طرحهای شدتی صوت و امثالهم را از پیام عصبی استخراج می‌کنند. به تعبیر دیگر سلولها تا حدودی تخصص عمل یافته‌اند که به محرک حسی از جهت خاصی بنگرند و پس از دریافت آن ویژگی، آنرا به مراکز عالی‌تر حسی گزارش کنند (۱۴،۵).

یکی از روشهای، بررسی نحوه آنالیز اطلاعات حسی، تقسیم بندی سلولها بر اساس طرح پاسخی است که به محرک می‌دهند. مثلاً سلولهایی ممکن است به شروع و یا خاتمه و یا دوام و یا شدت خاص و یا ویژگی خاص دیگر سیگنال حسی پاسخ دهند (۱۴). ساده‌ترین روش یافتن طرح پاسخ سلولهای شنوایی، ثبت پاسخ سلول به یک صوت با فرکانس واحد (Pure tone: تون خالص) است که با شدتی بالاتر از آستانه و در بهترین فرکانس عرضه می‌شود (بهترین فرکانس، فرکانسی است که سلول نسبت به آن با کمترین شدت صوت پاسخ می‌دهد). به این نوع طرح پاسخ سلولهای شنوایی که بر اساس زمان ترسیم می‌شود، PSTH (Post-stimulus time histogram) می‌گویند (۱۴).

نوع PSTH در سلولهای عصب شنوایی (۷) و در هسته‌های مختلف حلزونی (۲) به طور مبسوط بررسی شده است. در مراکز دیگر شنوایی چون هسته‌های lemniscus جانبی (۱۲) و کرتکس (۴) نیز تا حدودی شناخته شده است.

در هسته کالیکولوس تحتانی (Inferior colliculus) که یکی از هسته‌های بزرگ و مهم شنوایی است و در مغز میانی قرار دارد، نیز مطالعاتی در شناخت PSTH انجام گرفته است (۶)، اما به دلیل ناقص بودن این مطالعات و عدم دقت کافی در تقسیم بندی جامع PSTHها و همچنین اختلافاتی در تعاریف، این مطالعه انجام گرفت. طرحهای مختلف PSTH به طور وسیع بررسی و بر اساس معیارهای علمی تقسیم بندی و نامگذاری شده و برخی از عملکردهای فیزیولوژیک هر نوع PSTH نیز مورد بررسی قرار داده شد.

مواد و روشها:

آزمایشات بر روی خوکچه هندی بالغ از هر دو جنس انجام گرفت. حیوان توسط آلفا-کلرالوز (Sigma, ۷۵mg/kg, i.p.) بیهوش شده و در طول آزمایش نیز بیهوشی با همین دارو حفظ می‌شد. سولفات آتروپین (۰/۰۵mg/kg s.c.) برای کاهش ترشحات نای تزریق می‌شد. پس از باز کردن نای یک کانول در آن قرار می‌گرفت و این کانول به دستگاه تهویه کننده متصل و غلظت دی اکسید کربن بازدمی نیز توسط دستگاه آنالیز کننده دی اکسید کربن اندازه‌گیری می‌شد. دمای بدن حیوان توسط یک تشک الکتریکی (electric blanket) روی ۳۷ درجه سانتیگراد حفظ می‌شد. سپس سر حیوان را در دستگاه استرئوتاکس ثابت کرده و پوست سر و قسمت کوچکی از جمجمه در بالای کالیکولوس تحتانی برداشته می‌شد. پرده مننژ نیز از روی مغز کنار زده می‌شد.

صوت خالص توسط دستگاه مولد صوت (Hewlett-Packard 3325A Waveform Synthesizer) ایجاد شده و توسط گوشی‌های مخصوص (Sony MDR 464 earphone) به سوراخ گوش طرف مقابل محل ثبت حیوان عرضه می‌شد طول دوره هر صوت ۷۵ میلی ثانیه و به تعداد چهار بار در ثانیه تکرار می‌شد.

شدت صوت ایجاد شده ۲۰-۱۵ دسی بل بالای آستانه و فرکانس آن در بهترین فرکانس هر سلول بود. پتانسیل عملهای ایجاد شده توسط هر سلول، با

www.SID.ir

Archive of SID

استفاده از یک میکروالکترود تنگستن با پوشش شیشه‌ای ثبت و توسط یک آمپلی فایر (DAM 80, Preamplifier, WPI) تقویت (10^4×) شده سپس توسط دستگاه Window discriminator (WPI) پتانسیلهای تک سلول تفکیک شده و به دستگاه CED-1401 (Cambridge Electronic Design) تغذیه می‌شد. این دستگاه زمان هر پتانسیل عمل را با دقت ۱۰ میکرو ثانیه تعیین و آنرا در فایلی ذخیره کرده و در زمان مناسب به کامپیوتر ارسال می‌نمود تا مورد پردازش بیشتر قرار گیرند. برای هر طرح زمانی، تحریک ادامه می‌یافت تا ۸۰۰۰ پتانسیل عمل ثبت شود و یا ۲۰۰۰ مرتبه تحریک تکرار شود.

پس از خاتمه آزمایش یک ضایعه الکترولیتی (با ارسال ۵ میکروآمپر الکتریسیته مستقیم به مدت ۵ ثانیه) در محل ثبت ایجاد کرده و حیوان را با دوز بالای داروی بیهوشی کشته و از طریق قلب مایع فیکس کننده (فرمالین) به عروق مغزی جاری می‌شد. پس از فیکس کامل، مغز را از جمجمه خارج و کالیکولوس تحتانی را جدا و توسط دستگاه میکروتوم یخ زننده (Freezing Microtome) برشهای ۶۰ میکرونی تهیه و توسط Crysel violet رنگ‌آمیزی و با مطالعه در زیر میکروسکوپ محل دقیق سلولهای مورد مطالعه تعیین می‌گردید. برای تقسیم بندی کالیکولوس تحتانی از مطالعه Malmierca و همکاران (۱۱) استفاده شد.

برای ترسیم PSTH با توجه به لحظه شروع محرک صوتی، پاسخهای هر نورون به محرک‌های زنجیره‌ای صوت، دقیقاً از نظر زمانی روی هم چیده می‌شد. بدین نحو که محورافقی (X) زمان را بر حسب میلی ثانیه و محور عمودی (Y) فرکانس پتانسیل عمل را نشان می‌دهد (مثال در نمودار شماره ۲). محور X به فاصله های ۱۰۰ میکرو ثانیه‌ای تقسیم شده و جایگاه هر پتانسیل عمل نسبت به شروع تحریک در هر کدام از این فواصل مشخص می‌شد. با تکرار این کار تا آخرین پتانسیل عمل، یک نوع هیستوگرام بسیار دقیق به دست می‌آید که PSTH نامیده می‌شود. فاصله زمانی بین نقطه صفر و شروع پاسخ در محور X نشانگر تأخیر زمانی بین محرک و پاسخ است. PSTH به دو قسمت Onset (۱۰-۵ میلی ثانیه اول پاسخ) و Sustained (دوام پاسخ) تقسیم می‌شود.

نتایج:

۲۱۶ سلول مورد بررسی قرار گرفتند که ۱۷۴ سلول (۸۰٪) در هسته مرکزی کالیکولوس تحتانی، ۲۶ سلول در کرتکس تاجی، ۹ سلول در کرتکس پشتی و ۷ سلول در کرتکس جانبی قرار داشتند. محدوده بهترین فرکانس سلولها از ۱۴ تا ۲۲ کیلوهرتز بود.

نمودار شماره ۱ تقسیم بندی کلی PSTHها را همراه با درصد نورونهای زیر مجموعه Tonic نشان می‌دهد که در زیر توضیح داده می‌شود. ارقامی برای گروه Onset و Off ذکر نشده است چون در این مطالعه کلیه نورونهای Tonic مورد ثبت واقع می‌شدند ولی نورونهای Onset و Off به طور جنبی ثبت می‌شدند.

نورونها ابتدا به سه دسته کلی تقسیم شدند:

۱) نورونهای Tonic که در تمام طول زمانی صوت، پاسخ می‌دهند (مثال نمودار شماره A-۲).

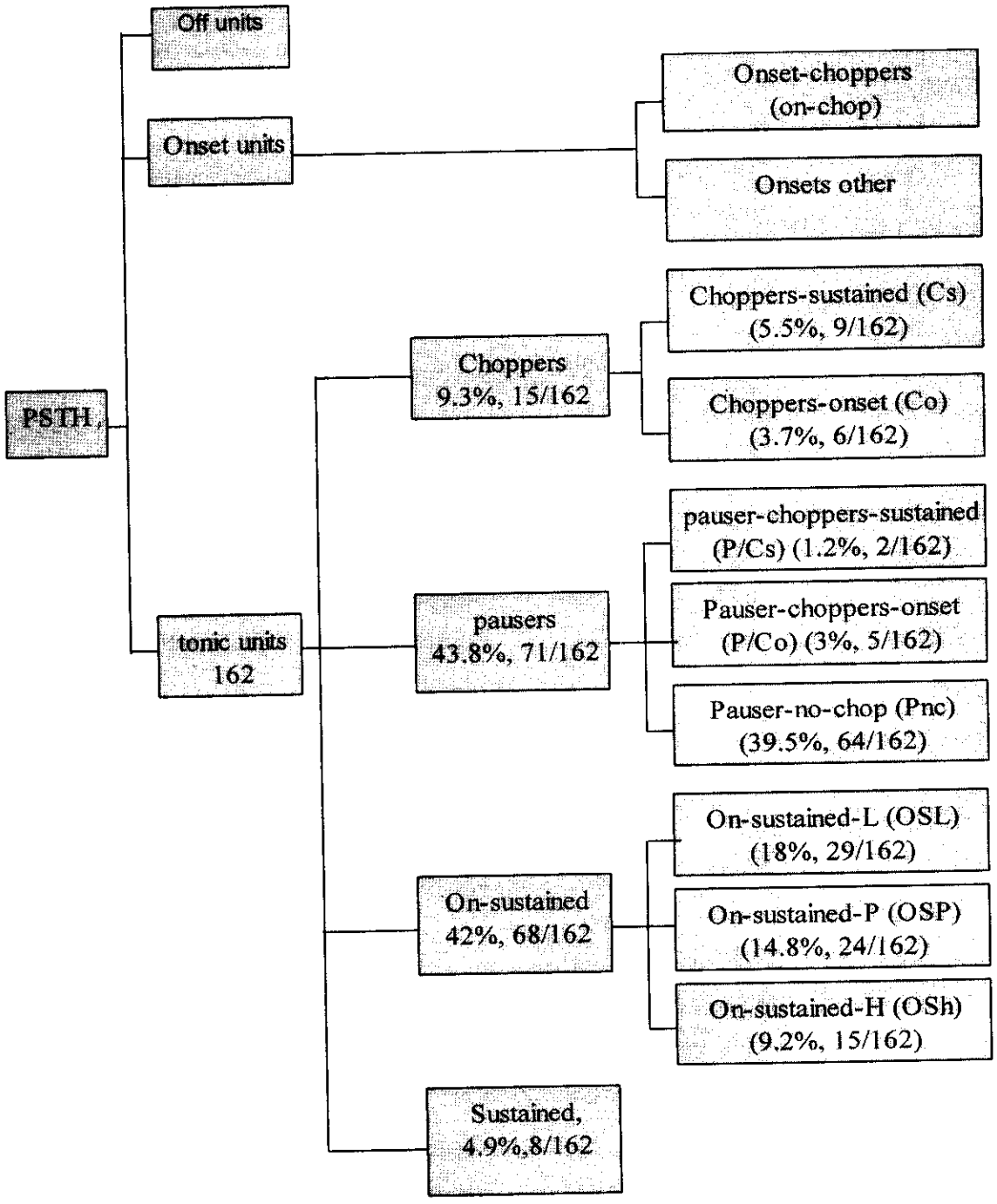
۲) نورونهای Onset که فقط به شروع تحریک صوتی پاسخ می‌دهند و سپس پاسخشان متوقف می‌شود (مثال نمودار شماره J-۲).

۳) نورونهای Off که به تحریک صوتی پاسخ مهاری می‌دادند یعنی قبل و بعد از تحریک دارای پتانسیل‌های عمل خود بخودی‌اند اما در دوره تحریک، پاسخشان به صفر می‌رسد (نمودار شماره L-۲).

نورونهای Tonic خود به سه گروه عمده تقسیم شدند: گروه اول یا نورونهای Chopper (نمودار شماره A, B-۲)، در این نورونها پتانسیل‌های عمل سلول به دلیل نظم زمانی بسیار زیاد، به صورت دسته های پشت

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار شماره ۱: تقسیم بندی انواع PSTH در هسته مرکزی کالیکولوس تحتانی.

سر هم مشاهده می‌شوند که نشان دهنده آنست که از نظر زمانی پتانسیل‌های عمل هر پاسخ با پاسخ دیگر شباهت نزدیکی داشته‌اند و این نظم زمانی را به طور طولانی حفظ کرده‌اند.

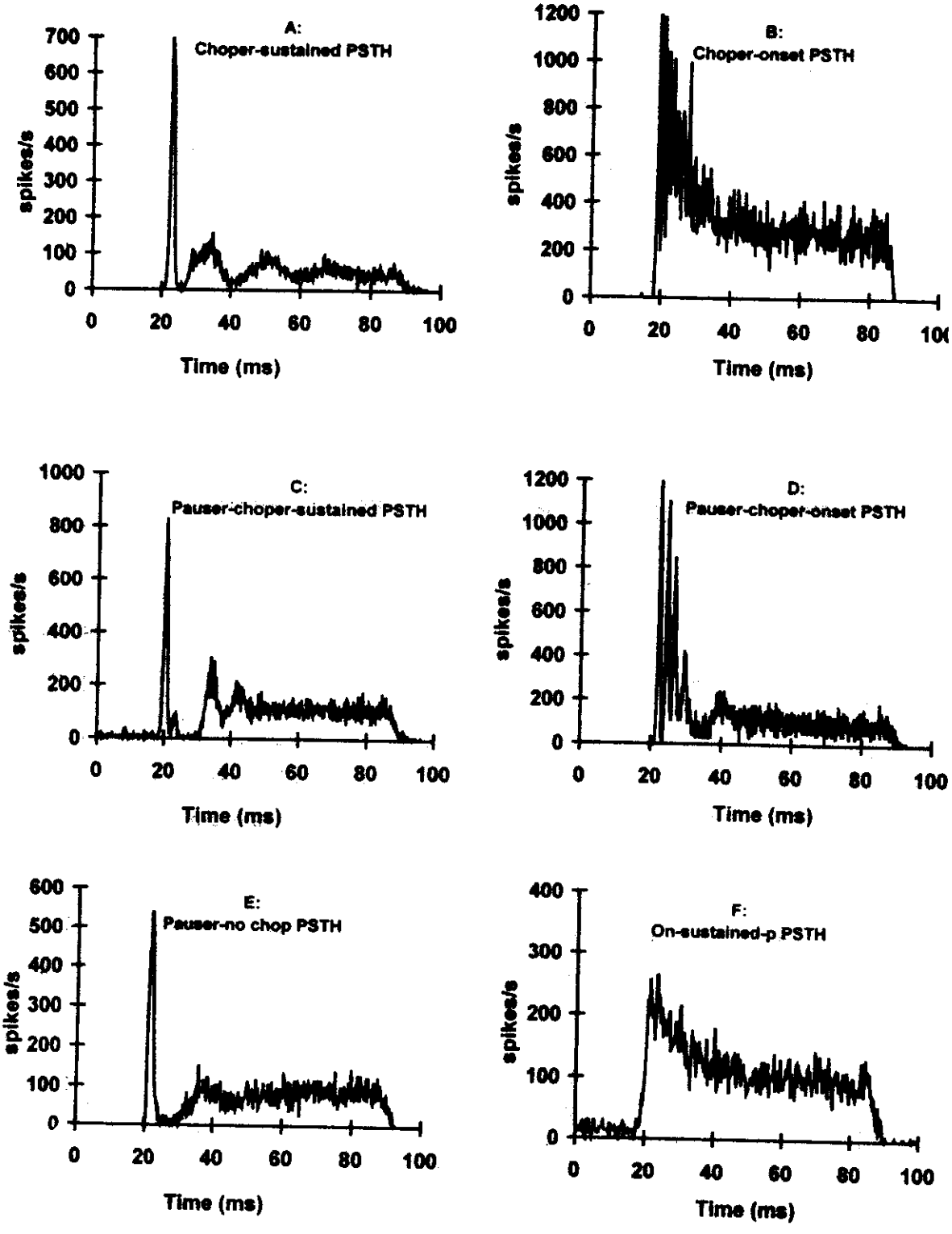
پاسخ چاپر خود به دو دسته تقسیم گردید:

Chopper-sustained که نظم زمانی را در کل دوره پاسخ حفظ می‌کند (نمودار شماره A-۲) و دسته دوم Chopper-onset است که خاصیت چاپر را در دوره Onset نشان می‌دهد (مثال نمودار شماره B-۲).

گروه دوم از نورونهای Tonic نورونهای Pauser

www.SID.ir

Archive of SID

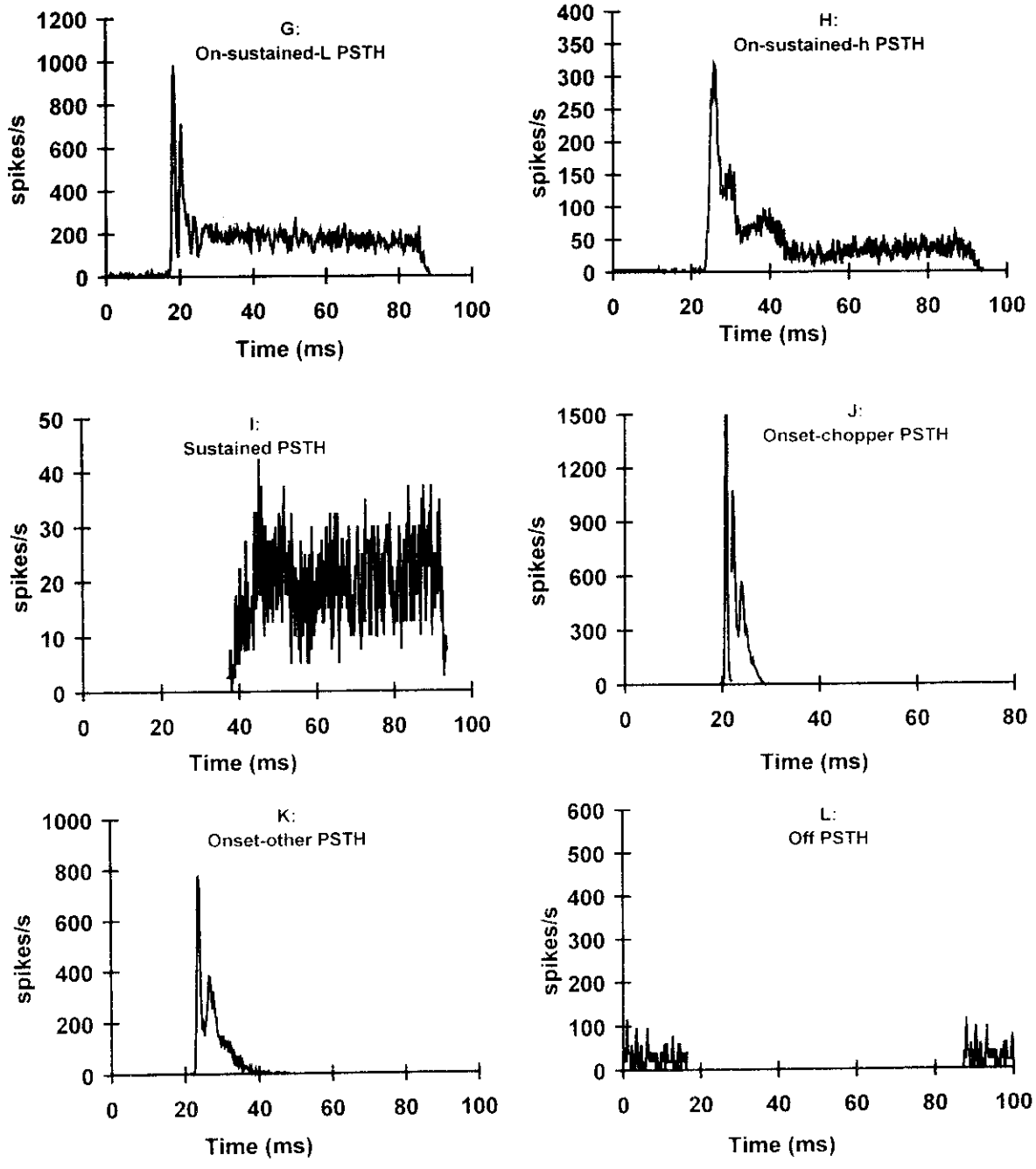


نمودار شماره ۲: انواع PSTHهای کالیکولوس تحتانی(A-L). نام هر نوع در عنوان نمودار ذکر شده است. ←

هستند (مثال نمودار شماره C-۲). ویژگی کلی این نورونها وجود یک وقفه نسبی یا کامل در پاسخ، پس از Onset است. Pauserها خود به سه دسته Pauser-chopper-sustained که در قسمت Sustained خاصیت

www.SID.ir

Archive of SID



← ادامه نمودار شماره ۲

چاپر دارند (نمودار شماره ۲-C)، Pauser-chopper Onset- که در قسمت Onset خاصیت چاپر دارند (نمودار شماره ۲-D) و Pauser-no-chop که خاصیت چاپر ندارند (نمودار شماره ۲-E) و نظم زمانی پتانسیل‌های عمل در آنان کمتر است، تقسیم شدند. گروه سوم از نورونهای تونیک، نورونهای On-sustained هستند (مثال نمودار شماره ۲-F). در این نوع، هم پاسخ به شروع تحریک (Onset) و هم پاسخ به دوام تحریک (Sustained) وجود دارد و خاصیت چاپر یا وقفه در آنان مشاهده نمی‌شود. این گروه خود به سه دسته تقسیم گردیدند شامل: On-sustained-P که فرکانس پتانسیل عمل از Onset به تدریج کاسته می‌شود (نمودار شماره

www.SID.ir

Archive of SID

F-۲). به دلیل تشابه این پاسخ با PSTH سلولهای عصب حلزونی (Primary-like)، این نام راگرفتند. دسته دوم این گروه On-sustained-Lها هستند که پس از Onset پاسخ به شدت و سرعت کاسته شده و پس از آن تقریباً ثابت می‌ماند (نمودار شماره G-۲). چون این طرح شباهت به، حرف "L" دارد، این نام راگرفته است. دسته سوم این گروه On-sustained-hها هستند که پس از پاسخ Onset یک افزایش مجدد در پاسخ سلولی به صورت یک برآمدگی (hump) در آنان مشاهده می‌شود (نمودار شماره H-۲).

گروه چهارم از سلولهای Tonic نورونهای Sustained هستند (نمودار شماره I-۲). این نورونها فاقد پاسخ به شروع محرک (Onset) هستند و فقط به دوام محرک پاسخ می‌دهند.

نورونهای Onset خود به دو دسته Onset-chopper (نمودار شماره J-۲) و Onset-other که فاقد نظم زمانی‌اند (نمودار شمارهK-۲) تقسیم شدند. یک نمونه پاسخ Off هم در نمودار شماره L-۲ مشاهده می‌شود.

بحث:

تقسیم کامل طرح پاسخ نورونهای کالیکولوس تحتانی در این مطالعه انجام گرفت (نمودار شماره ۱). طرحهای کلی PSTH درکالیکولوس تحتانی شامل On-sustained (۱۹،۸)، Chopper (۲۲،۲۱،۱۵) و Onset (۲۲) در تحقیقات قبلی شناخته شده بود اما از نظر نامگذاری تفاوتهایی با نتایج این تحقیق دارند. همچنین تقسیم بندی‌های ثانوی جزئی هر گروه نیز در کارهای قبلی مشاهده نمی‌شود.

پاسخ شدید نورونهای شنوائی به شروع محرک صوتی وکاهش تدریجی پاسخ، در سطوح مختلف مراکز شنوایی از عصب حلزونی تا کرتکس مشاهده می‌شود (۱۲،۷،۴،۲) که می‌تواند ناشی از تطابق (accomodation) و یا خستگی سیناپسی و یا مهار تأخیری باشد. در مطالعات متعددی نیز مشاهده شده که با بلوک فیبرهای مهاری مثل GABA، طرح PSTH تغییر می‌کند؛ از جمله طرح On-sustained به Chopper و Pauser به On-sustained تبدیل می‌شوند (۱۰،۹) که نشان دهنده این است که توقف پاسخ در نورونهای Pauser توسط مهار تأخیری ایجاد می‌شود. در نورونهای Onset نیز احتمالاً به دلیل یک سیستم مهار تأخیری ممتد پاسخ به دوام محرک قطع می‌شود. در نورونهای Sustained که فاقد پاسخ Onset هستند احتمالاً یک سیستم مهاری اولیه برای یک دوره کوتاه پاسخ را قطع می‌کند. نورونهای Off چون پیام مهاری از هر دو گوش دریافت می‌کنند، تحریک صوتی را با قطع پاسخ جواب می‌دهند.

در مورد عملکرد فیزیولوژیک احتمالی نورونهای مذکور، فرضیات متعددی ارائه شده و مطالعاتی نیز انجام گرفته است (۱۴). نورونهای Onset احتمالاً به طور اختصاصی شروع تحریک را و نورونهای Sustained به طور اختصاصی دوام تحریک را به مغز گزارش می‌کنند.

نورونهای Pauser، محتملاً مجال تفکیک دقیق بین شروع و دوام تحریک را برای مغز فراهم می‌آورند. نورونهای Off، محتملاً در هنگام عدم تحریک، نبودن ورودی صوتی را به مغز اعلام می‌کنند و در هنگام وجود صوت، شروع، دوام و خاتمه محرک صوتی را تعیین می‌کنند (۶). نورونهای Off در سیستم بینایی هم مشاهده شده‌اند (۱).

در مورد نورونهایی که دارای نظم زمانی پتانسیل عمل هستند مثل Chopper ها و عده‌ای از On-sustained ها مطالعات بیشتری انجام گرفته که نشان داده‌اند که بین نورونهای منظم و نامنظم در پاسخ به اصوات پیچیده (مثل اصوات با دامنه متغیر که در مکالمات به کار می‌روند) تفاوت آشکار وجود دارد که احتمالاً نقش ویژه هر کدام را در آنالیز بخشی از اطلاعات صوتی پیچیده نشان می‌دهد (۲۰،۱۸،۱۷،۱۶).

www.SID.ir

Archive of SID

به طور خلاصه در این مطالعه تقسیم بندی دقیق طرح زمانی پاسخ نورونهای کالیکولوس تحتانی انجام گرفت که پایه‌ای برای مطالعات پیچیده‌تر بعدی است.

تشکر و قدردانی:

با تشکر از وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی که هزینه این تحقیق را فراهم کرده و با تشکر از استاد گرانقدر دکتر آدریان ریز که این تحقیق در آزمایشگاه ایشان در نیوکاسل انگلیس انجام گرفت.

References:

1- Barlow HB. Physiology of the retina, In: Barlow HB.; Mollon JD. (eds.). The senses: From Cambridge University Press. Cambridge: UK, 102-13, 1989.

2- Blackburn CC.; Sachs MB. Classification of unit types in the anteroventral cochlear nucleus, PST histograms and regularity analysis. J Neurophysiol, 62(6): 1303-29, 1989.

3- Brown AC. Introduction to sensory mechanisms. In: Patton HD.; Fuchs AF.; Hille B.; Scher AM.; Steiner R(eds.). Textbook of physiology: From WB Saunders Company. Philadelphia: USA, Vol 2, 285-98, 1989.

4- Brugge JF.; Merzenich MM. Patterns of activity of single neurones of the auditory cortex of monkey. In: Moller AR (ed.). Basic mechanisms in hearing: From New York Academic. New York: USA, 745-72, 1973.

5- Carpenter RHS.; Hearing. In: Carpenter RHS. Neurophysiology: From Arnold. London: UK, 101-17, 1996.

6- Irvine DR. Physiology of the auditory brainstem. In: Popper NA.; Fay RR (eds.). The mammalian auditory pathway. Neurophysiology: From Springer. New York: USA, 153-231, 1992.

7- Kiang NYS.; Watenabe T.; Thomas EC.; Clark LF. Discharge patterns of single fibres in the cat's auditory nerve: From MIT Press. Cambridge: UK, 1965.

8- Kuwada S.; Yin TCT.; Syka J.; Bunnen TJF.; et al. Binaural interactions in low frequency neurones in inferior colliculus of the cat. IV. Comparison of monaural and binaural properties. J Neurophysiol, 51: 1306-25, 1984.

9- Le Beau FEN.; Malmierca MS.; Rees A. The role of inhibition in determining neuronal response properties in the inferior colliculus. In: Manley GA.; Klump G.; Koppl C.; Fastl H.; Oekinghaus H (eds.). Advances in hearing research: From World Scientific. Singapore, 1995.

10- Le Beau FEN.; Rees A.; Malmierca MS. Contribution of GABA- and glycin-mediated inhibition to the monoaural temporal response properties of neurons in the inferior colliculus. J Neurophysiol, 75: 902-19, 1996.

11- Malmierca MS.; Rees A.; Le Beau FEN.; Bjaalie JG. Laminar organisation of frequency-defined local axons within and between the inferior colliculi of the guinea pig. J Comp Neurol, 357: 124-44, 1995.

12- Markovitz NS.; Pollak GD. The dorsal nucleus of the lateral lemniscus in the mustache bat: Monaural properties. Hear Res, 71: 51-63, 1993.

13- Martin JH.; Jessell TM. Madality coding in the sensory system, In: Kandel ER.; Schwartz JH.; Jessell TM. Principles of neural science: From Prentice-Hall International Inc. NewYork: USA, 341-52, 1991.

14- Moore BCJ. The nature of sound and the structure and function of the auditory system. In: Moore BCJ (ed.). An introduction to the psychology of hearing: From Academic Press. London: UK, 1-45, 1989.

www.SID.ir

Archive of SID

15- Popelar J.; Syka J. Response properties of neurons in the inferior colliculus of the guinea pig. Acta Neurobiol Exp, 42: 299-310, 1982.

16- Rees A.; Sarbaz A.; Malmierca MS.; Le Beau FBN. Regularity of firing of neurons in the inferior colliculus. J Neurophysiol, 77: 2945-65, 1997.

17- Rees A.; Sarbaz A.; Malmierca MS.; Le Beau FBN. Regularity of neurons in the inferior colliulus. Br J Audiol, 30: 105, 1996.

18- Rees A.; Sarbaz A. The influence of intrinsic oscillations on the encoding of amplitude modulation by neurons in the inferior colliculus. In: Syka J (ed.). Acoustical signal processing in the central auditory system: From Plenum Press. London: UK, (In press).

19- Rose JE.; Greenwood DD.; Goldberg JM.; Hind JE. Some discharge characteristics of single neurones in the inferior colliculus of the cat. I. Tonotopical organisation, relation of spike counts to tone intensity and firing patterns of single elements. J Neurophysiol, 26: 294-320, 1963.

20- Sarbaz A.; Rees A. Amplitude modulation encoding and regularity in the inferior colliculus. Br J Atuliol, 30: 105-6, 1996.

21- Vater M.; Schlegel P. Comparative auditory neurophysiology of the inferior colliculus of two molossid bats, Molissus ater and Molossus molossus. J Comp Physiol, 131: 147-60, 1979.

22- Willott JF.; Urban GP. Response properties of neurones in nuclei of the mouse inferior colliculus. J Comp Physiol, 127: 175-84, 1978.

www.SID.ir