

Nervcellens frekvensbudskap

The message of the motoneurone

Professor RAGNAR GRANIT, Neurofysiologiska avdelningen, Medicinska Nobelinstitutet, Karolinska institutet, Stockholm

De stora celler mellan 30 och 50 μ i diameter, som ligger i ryggmärgens främre horn och sänder sina nedstigande trådar eller axoner till musklerna, kallas motoneuron. De är i sista hand exekutorer av en komplex ordregivning, som dels är viljestyrd, dels hel-automatisk, men i båda fallen noggrant kontrollerad. Min avsikt är att ge några exempel på arten av de problem man möter vid studiet av dessa cellers impulsurladdning och att särskilt beröra några frågeställningar, som de sista åren intresserat en grupp forskare på det Medicinska Nobelinstitutets neurofysiologiska avdelning (Granit, Kellerth, Kernell, Lamarre, Shortess, Smith, Szumski, Williams).

Motoneuronen är såsom många andra nervceller täckt av s. k. *synapser* som är inkommande nervbanors ändslut på cellmembranen. Om synapsernas struktur har elektronmikroskopet de sista åren gett detaljerade upplysningar. Själva cellen består av en kärnförande kropp eller *soma* och utlöpare i ryggmärgen som kallas *dendrit*. Den nedstigande nervbanan eller *axonen* har redan omnämnts. Synapsantalet varierar avsevärt, från ca 10 000 på medelstora celler till 30 000 på de största motoneuronen. De företräder ett stort antal olika banors terminaler. Ingångsbanorna kommer i flertalet fall från omkopplingsceller inom samma segment. De kan ha sitt ursprung i något sinnesorgan, i automatiska eller i viljestyrda centra i hjärnan. En reorganisation av budskapen sker i omkopplingscellerna.

Oberoende av terminalernas härstamning så är budskapet till sin elektriska natur alltid detsamma, en frekvensvarierad aktionspotential utspelad inom en tidsrymd av en millisekund. I synapsen utlöser den en kemisk process, vars följd är en lokal permeabilitetsökning, obetydlig i varje enskild synaps men i sin mångfald ledande till att, beroende på synapsens art, cellen antingen de- eller repolariseras. Retande synap-

ser depolariserar cellen, hämmande repolariserar den. Depolarisationen gör cellmembranen generativ och den alstrar då impulser, som genom axonen åstadkommer kontraktion i de muskeltrådar den innerverar. Hämning innebär att membranpotentialen återförs mot sitt viloläge, ca -70 mV. Motoneuronens aktivitet regleras av balansen mellan retande och hämmande synapser.

Vårt första intresse gällde sambandet mellan cellens depolarisationsgrad och impulsfrekvens. Depolarisation kan åstadkommas genom att från en mikroelektrodspets inne i motoneuronet sända en utåtriktad ström över membranen. Man använder därvid ett narkotiserat försöksdjur, öppnar ryggmärgskanalen och fixerar djuret med all möjlig omsorg varefter mikroelektroden kan införas i ryggmärgssubstansen. Elektroden är en glaskapillär med spets under 0,5 μ , fylld med en 2 M KCl-lösning. Motoneuronen ligger i ryggmärgens bottenkikt och är alltså osynliga. Flertalet penetrationer alstrar därför enbart cellskador och membranpotentialen i sådana motoneuron sjunker till en obetydlighet innan försöket kommit igång. Ofta föreligger membranläckor. En alltför låg membranpotential (dvs. excessiv depolarisation) ger inaktivering av den generativa mekanism som utlöser impulsbildningen vid transmembranal genomströmning. Med goda penetrationer håller sig membranpotentialen länge stabil. Vårt rekord är 3 timmar.

Figur 1 visar en experimentell serie över varierande strömstyrka på enskild cell hos råttan. Strömstyrkan i nA anges till höger för varje kurva. Resultatet föreligger analyserat i Fig. 2. Kurvan 1 avser medelfrekvensen i urladdningen för den första tredjedels sekunden, kurvan 2 vid 1,3 sek och kurvan 3 vid 2,6 sek. Cellens initiala strömkänslighet är alltid avsevärt större än det slutliga värdet vid vilket processen stabiliseras. Den höga initialkänsligheten har sin be-

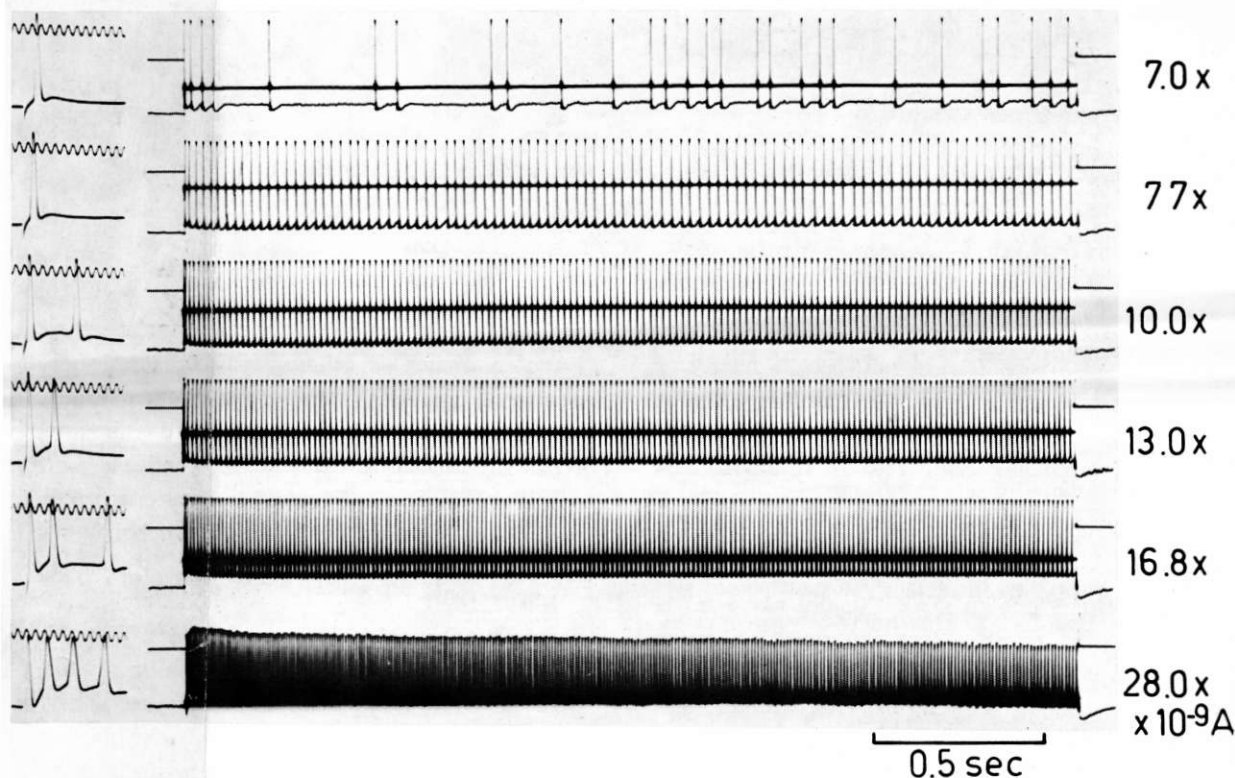


Fig. 1. Intracellulär elektrod i motoneuron hos råtta. Till vänster initialurladdningen i varje kurva i snabbare bild, tid millisekunder. Strömstyrkan, markerad av signal även angiven till höger i nA.

Intracellular electrode in motoneurone of rat spinal cord. Records of firing rate against injected current in nA. On the left initial portion of discharges against time in msec.

tydelse dels som startmekanism, dels för kontraktionens stigningstempo, vilket ökar inom ett avsevärt större frekvensområde än muskeln kan utnyttja, när den blott vidmakthåller en bestämd kontraktionsstyrka.

I Fig. 2 observeras att kurvorna satureras vid ett maximum, som i Fig. 1 (nederst) karakteriseras av att impulserna minskat i storlek, innebärande ett visst mått av partiell inaktivering. Hos katt, som har större motoneuron, är penetrationerna pålitligare, och det är möjligt att använda högre strömstyrkor. Kernell har på detta försöksdjur kunnat visa, att därvid ca hälften av cellerna har en andra stigande skänkel på kurvan i enlighet med bilden, Fig. 3. Även denna kan approximeras med en lineär relation. Det ter sig sannolikt att alla celler skulle ha ett sådant sekundärt arbetsområde, om dess uppkomst inte förhindrades av tekniska felkällor, som blott kan undgås i de bäst lyckade penetrationerna.

Om muskelkontraktionen, utlöst av den cell man intracellulärt stimulerar, samtidigt registreras, så visar det sig att den lägre kurvan, det *primära* arbetsområdet, omfattar ca 85 % av kontraktionens omfång; resterande 15 % hänför sig till det *sekundära* arbetsområdet.

Med denna metod att urladda motoneuron genom intracellulärt injicerad ström kan problem angripas, som annars är svårtillgängliga. Vi har bl. a. frågat oss hur motoneuronen beter sig, om man på en sådan transmembranal urladdning av valbar frekvens superponerar en konstant reflektorisk synapseffekt, retande eller hämmande. Ett exempel på tekniken ges i Fig. 4. Den övre kurvan visar den membranpotential som åstadkommes av en viss reflektorisk nervretning. Cellmembranen har reagerat med en depolarisering, som ligger under dess fyrningströskel. I den nedre kurvan fyras cellen av transmembranalt från mikroelektroden och när nu den reflektoriska retningen insättes under

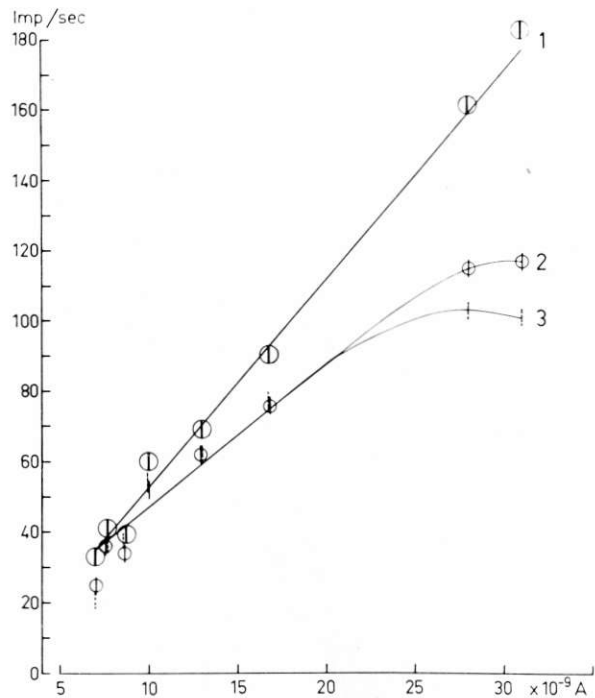


Fig. 2. Analys av experimentet från Fig. 1. Impulsfrekvensen uträknad för ögonblick som anges i texten. Lutningskonstanten för kurva 1 är $5,9 \text{ impulser sek}^{-1} \text{ nA}^{-1}$, för de övriga $4,1 \text{ impulser sek}^{-1} \text{ nA}^{-1}$.

Analysis of experiment of Fig. 1. Impulse frequency calculated at different moments: 1) during first 3/4 sec of current, slope $5.9 \text{ impulses sec}^{-1} \text{ nA}^{-1}$; 2) at 1.3 sec (curve 2); 3) at 2.6 sec (curve 3). Slope of rectilinear portion for curves 2 and 3 is $4.1 \text{ impulses sec}^{-1} \text{ nA}^{-1}$.

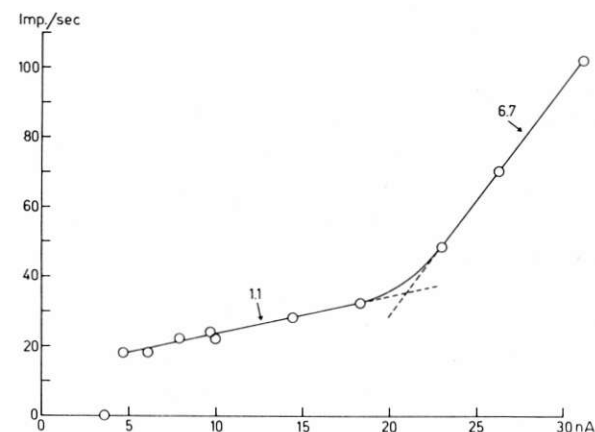


Fig. 3. Impulsfrekvensen som en funktion av strömstyrkan i motoneuron hos katt efter stabilisering.

Impulse frequency stabilized after initial phase of adaptation as in Fig. 2, plotted against strength of injected current for cat motoneurone (Kernell).



Fig. 4. Intracellulär avledning från motoneuron hos katt. Den övre kurvan visar den depolariseringspotential som erhålles vid tetanisk retning av nerv, den nedre samma retning överlagrad en transmembran urladdning av cellen.

Intracellular recording from cat motoneurone. Upper curve: depolarization of this cell by fast repetitive stimulation of sensory nerve. Lower curve: Same superimposed on firing by injected current.

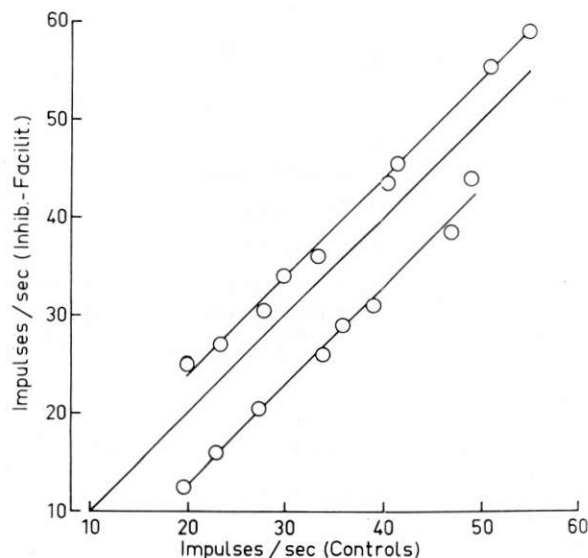


Fig. 5. Intracellulär retning av katt-motoneuron med överlagrad reflektorisk retning och hämning, såsom förklaras i texten.

Cat motoneurone. To show algebraical summation of firing rates of motoneurone stimulated by current from tip of intracellular electrode. Abscissae: Firing rates caused by injected currents. Ordinates: Firing rates when a reflex excitation (upper) or inhibition (lower) is added. The case when the added values = 0 change, indicated by 45° line in the middle.

pågående urladdning, så alstrar den en stark frekvensökning. Sådana frekvensökningar (eller frekvensminskningar om reflexen är hämmande) kan man mäta vid olika transmembranalt åstadkomna utgångsfrekvenser och på detta sätt studera cellens beteende inom det primära och sekundära frekvensområdet.

Ett experiment av denna art analyseras i Fig. 5. På abscissan har därvid utlagts de kontrollfrekvenser som den transmembranala strömmen alstrat ensam för sig; på ordinatan de frekvenser som erhållits med en superponerad konstant reflektorisk retning (övre kurvan) och hämning (nedre kurvan). Den mittersta

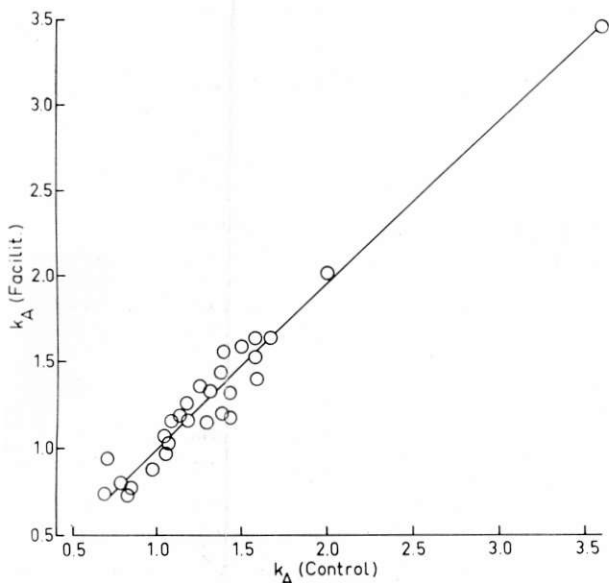


Fig. 6. Fullständig förklaring i texten.

Cat motoneurons. Slope constants in 28 experiments of curves with reflex excitation added (as in Fig. 5, upper curve) plotted against slope constants of control curves, as obtained by injected currents alone, to show perfect algebraical summation of the two firing rates.

kurvan är en 45° linje genom origo avsedd att belysa det fall då både retningen och hämningen har effekten 0, dvs. ingen ändring av kontrollfrekvenserna. De båda experimentella kurvorna är parallella med denna och alltså föreligger inom primärområdet algebraisk addition av frekvenser.

Om nu denna lagbundenhet vore allmänt giltig, så skulle lutningskonstanterna för kontrollkurvorna (transmembranal ström ensam för sig) och för de kurvor som erhållits med experimentellt adderade plus- eller minustermer alltid vara desamma. Vi ser i Fig. 6 att detta är fallet i de 28 experiment som avsåg addition. Subtraktionen betedde sig på samma sätt. Slutsatsen av sådana försök är sålunda att nervcellen inom sitt primära arbetsområde adderar och subtraherar impulsfrekvenser med en precision, som sannolikt är högre än de experimentella metoderna gör det möjligt att imitera. Ehuru komplext till sin byggnad kan motoneuronet bete sig på detta sätt på grund av att det håller sig med en impulsstrande fyrningszon. Man får föreställa sig att de små synaptiska batterierna ligger parallellkopplade på cellmembranen; de inkommande impulserna åstadkommer

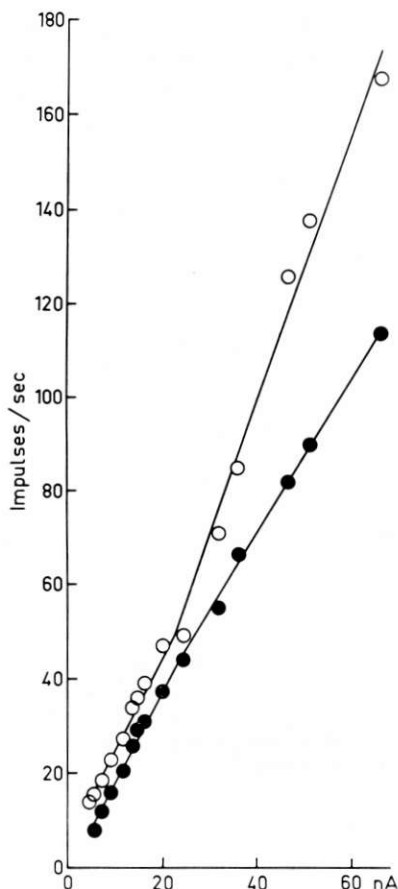


Fig. 7. Intracellulär retning av katt-motoneuron med överlagrad reflektorisk hämning. Se texten.

Cat motoneurone. Abscissae: strength of current injected from tip of intracellular electrode against impulse frequency. Circles: current alone, filled circles: current plus added constant reflex inhibition.

där primärt konduktansökningar vilka i sin tur utlöser de strömmar vars nettovärde urladdningszonen reagerar på.

Ur sådana försök kan man med ledning av resultat av den typ som getts exempel på i Fig. 4 beräkna antalet impulser per sekund och millivolt membranpotential, en för många syften nyttig och intressant siffra. Den är $2,28$ impulser $\text{sek}^{-1}\text{mV}^{-1}$ och gäller för stora motoneuron, sådana som elektroden lyckats behålla.

Inom det sekundära arbetsområdet arbetar cellen icke mera med algebraisk summation. Det skulle föra för långt att här taga till tals hela detta arbete. Endast det intressantaste resultatet skall omnämnas. Det be-

rör hämningen, inhibitionen. Sammanhanget blir lättast att förstå, om den grafiska framställningen ges en annan form, såsom i Fig. 7. Abskissan anger styrkan av den transmembranala strömmen, ordinatan impulsfrekvensen. Ensam för sig ger strömmen de frekvensvärden, som i detta enskilda typförsök anges av cirklarna (övre kurvan). Den undre kurvan (fyllda cirklar) anger totalfrekvensen efter att det konstanta hämningstillskottet adderats. Den ligger följaktligen lägre, men är parallell med kontrollen inom det primära arbetsområdet i enlighet med vad här ovan utförts. Som synes divergerar kurvorna inom det sekundära arbetsområdet. Resultatet kan sägas innebära, att hämningen icke blott minskar urladdningsfrekvensen utan även strävar att återföra cellen till dess primära arbetsområde, i olika försök mer eller mindre fullständigt. Hämningen stabiliserar cellens urladdning och utsträcker till högre frekvenser dess egenskap att addera simultana synapseffekter algebraiskt.

Den biologiska betydelsen av detta försök är sålunda att det gett nya aspekter på hämningens betydelse för nervcellens arbete. Om detta resultat som biofysiskt skeende funnes en hel del att tillägga, men min avsikt är inte att ingå härpå. Meningen har blott varit att helt kort presentera exempel på en biologisk forskning, som närmar sig fysiken icke blott i anseende till metodik och begreppsvärld utan även i sina konsekvenser för regleringsproblem. Nervimpulsens natur har icke närmare berörts. Problemen på detta område är rent biofysiska.

Summary

The paper is a semi-popular review of recent intracellular work on the control of firing rate in motoneurons as representatives of nerve cells, published by the author and his co-workers in the *Journal of Physiology* during the years 1963—1967. Full references obtainable on request from the laboratory.