

Patkány és ember agykérgi piramis sejtek jel terjedési sebességének vizsgálata

Doktori tézis

Oláh Gáspár

Témavezető:

Tamás Gábor, Ph.D., D.Sc.

egyetemi tanár

Szegedi Tudományegyetem

Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék

Biológia Doktori Iskola



2023

Szeged

Tartalomjegyzék

<i>Ábrajegyzék</i>	3
<i>Rövidítések jegyzéke</i>	4
<i>Bevezetés</i>	5
<i>Az agykéreg evolúciója és felépítése</i>	5
<i>Az emberi és rágcsáló agykéreg összehasonlítása</i>	7
<i>A piramissejtek dendritjeinek passzív és aktív működése</i>	9
<i>Visszaterjedő akciós potenciálok</i>	12
<i>Információáramlás az agykérgi mikrohálózatokban</i>	14
<i>Célkitűzések</i>	15
<i>Közreműködések</i>	16
<i>Anyagok és módszerek</i>	17
<i>Túlélő agyszelet preparátumok készítése</i>	17
<i>Elektrofiziológiai mérések</i>	17
<i>Mért sejtek anatómiai vizsgálata</i>	19
<i>Dendrit-hossz és vastagság mérése</i>	20
<i>Elektrofiziológiai jelek analízise</i>	20
<i>Membrán vastagság mérése</i>	22
<i>Modellezés</i>	22
<i>Eredmények</i>	24
<i>Szinaptikus latenciák ember és patkány mikrohálózatban</i>	24
<i>Axonális terjedési sebesség mérése</i>	26
<i>Szimulált EPSP-k terjedési sebességének vizsgálata</i>	27
<i>Visszaterjedő akciós potenciálok terjedési sebessége</i>	29
<i>Ember és patkány piramissejtek specifikus membrán kapacitása</i>	32
<i>A dendritek vastagsága</i>	34
<i>A dendrit vastagságának hatása a vezetési sebességre modellben</i>	36
<i>Diskusszió</i>	38
<i>Összefoglalás</i>	42
<i>Summary</i>	44
<i>Köszönetnyilvánítás</i>	46
<i>Irodalomjegyzék</i>	47
<i>Függelék</i>	54

Ábrajegyzék

1. ábra: Különböző emlős fajok agyának keresztmetszeti képe.	6
2. ábra: Rágcsáló és ember II/III. rétegi piramissejtek morfológiája.	8
3. ábra: Az EPSPk latenciájának meghatározása.	21
4. ábra: 4. ábra: Páros elvezetések emberi és patkány piramissejtekről.	25
5. ábra: Axonális elvezetések II/III. rétegi piramissejtekből.	27
6. ábra: Dendritikus elvezetés sEPSP áraminjekcióval.	28
7. ábra: A bAP-k dendritikus elvezetése.	29
8. ábra: Farmakológiai vizsgálatok patkány és ember dendriteken.	31
9. ábra: Patkány és ember neuronjainak fajlagos membrán kapacitása és vastagsága.	33
10. ábra: A mért dendritek vastagságának meghatározása.	35
11. ábra: Az agykérgi piramissejt három kompartmentumos biofizikai modellje.	37

Rövidítések jegyzéke

AP	Akciós potenciál
AIS	Axon iniciális szegmentum
bAP	Visszaterjedő akciós potenciál (backpropagating action potential)
DS	Dendritikus akciós potenciál (dendritic spike)
NMDA	N-metil-d-aszparaginsav
Glu	Glutamát
GABA	γ -aminovajsav
TTX	Tetrodotoxin
PSP	Posztzinaptikus potenciál
Cm	Fajlagos membránkapacitás
Ri	Axiális ellenállás
Rm	Membrán ellenállás
τ	Membrán időállandó (tau)
Na _v	Feszültségfüggő nátrium csatorna
Ca _v	Feszültségfüggő kalcium csatorna
AMPA	2-amino-3-(5-metil-3-oxo-1,2-oxazol-4-il)propánsav
DIC	Differenciál interferencia kontraszt mikroszkópia

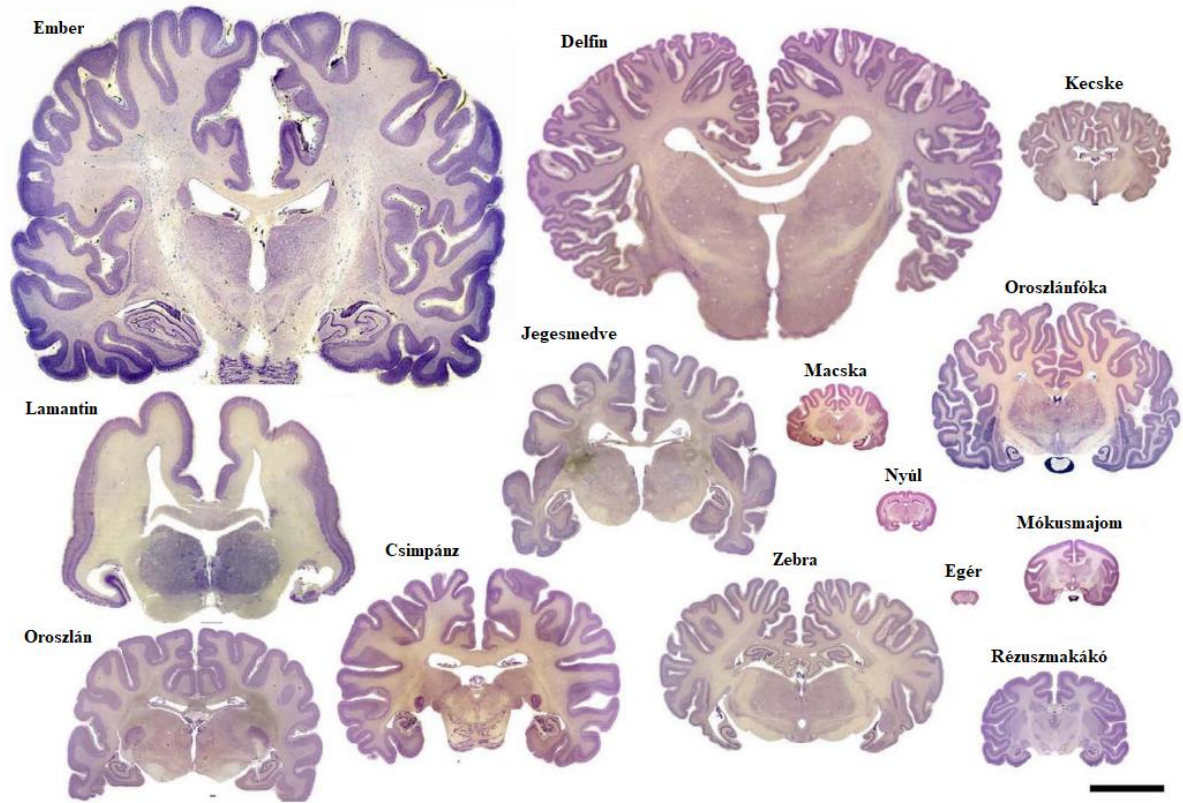
Bevezetés

Az agykéreg evolúciója és felépítése

A neocortex a törzsfejlődés során legkésőbb kialakult központi idegrendszeri struktúra. Ennek az emlősökre jellemző agyterületnek homológ változatait már hüllőkben és madarakban is meg lehet figyelni. Az evolúció során a kérgi területek radiális kiterjeszkedése figyelhető meg elsőként. A hüllőkre jellemző 3 rétegből álló cortex az emlősökben már 6 réteggel rendelkezik. Később a tangenciális kiterjeszkedés következtében létrejöttek az agykéreg barázdái, mely folyamat lehetőséget biztosított az agykéregben elhelyezkedő sejtek számának növekedéséhez. E folyamat biztosította annak lehetőségét, hogy a lokális neuronális hálózatok egyre összetettebbé váljanak, így lehetővé téve egyre bonyolultabb feladatok kódolását. E folyamat jól nyomon követhető az ember evolúciójának vizsgálata során. A pliocén óta a hominidák átlagos 450 cm^3 agytérfogata (*Australopitecus*) közel háromszorosára, 1345 cm^3 -re nőtt (*Homo sapiens*). Az emberi agy evolúciójában kétségkívül fontos szerepet játszott a *Homo erectus*, mely faj elsőként kezdte el használni a tüzet. Táplálkozási szokásai változásának köszönhetően energiabevitele jelentősen nőtt, ezzel megteremtve annak lehetőségét, hogy a nagy metabolikus igényű agyszövet további ugrásszerű méretnövekedésen mehessen keresztül (Holloway, 1996). A különböző koponyaleletek térfogatának növekedésével arányosan megfigyelhető az adott hominidára jellemző egyre bonyolultabb életformát alátámasztó régészeti leletanyag előfordulása. A modern ember (*Homo sapiens*) agyát megközelítőleg 86 milliárd idegsejt és 84 milliárd glia sejt építi fel (Azevedo et al., 2009). Egyes számítások szerint az agykéreg sejtjei 164 billió (10^{12}) szinapszist hoznak létre egymás között (Tang et al., 2001).

A neocortex citoarchitektúrájának komplexitása már a XIX. század végén lenyűgözte a kutatókat. A kortikális neuronok morfológiai sokszínűségét Santiago Ramón y Cajal viszonylag részletesen leírta. Annak ellenére, hogy e korai anatómiai megfigyelések jelentős része emberi agykérgi mintákon történtek, a sejteken és mikrohálózatokon végzett kísérletes eredmények, amely funkciójuk leírására és megértésére irányulnak, túlnyomórészt rágcsálókából készült preparátumokon végzett kísérletekből származnak. A különböző morfológiával rendelkező idegsejtekhez a modern idegtudomány módszereivel különböző funkciókat is sikerült társítani. Az agykéreg idegsejtjeit két csoportba oszthatjuk a mikrohálózatokban betöltött szerepük alapján. A serkentő piramis sejtek e terület principális sejtjei. Az agykéreg neuronjainak 75-85

%-át teszik ki, míg a fennmaradó hányadát lokális axon-arborizációval rendelkező gátló idegsejtek alkotják (Winfield et al., 1980).



1 ábra: Különböző emlős fajok agyának keresztmetszeti képe.

Jól megfigyelhető az agykéreg felületének növekedése a törzsfjlődés során. Skála: 10 cm

Defelipe, 2011 nyomán.

A különböző fiziológiai módszerek és anatómiai jelöléseknek köszönhetően mára már tudjuk, hogy a neocortex különböző rétegei különböző bemeneti és kimeneti profillal rendelkeznek. Az agykéreg legkülső, I. rétegében kizárólag gátló sejteket találhatunk szórványosan elhelyezkedve. Itt végződnek a talamuszból érkező nem specifikus rostok, illetve a különböző kérgi területeket összekötő asszociációs pályák. Az agykéreg II. és III. rétege sűrűn elhelyezkedő gátló interneuronokból és serkentő piramis sejtekből épül fel. A talamusz specifikus rostjai képeznek szinapsziseket az itt található sejtekkel. A IV. réteg piramis sejtjei nagyobbak, illetve a gátló interneuronok mellett e rétegben a primer szenzoros területeken találhatóak a serkentő tüskés csillagsejtek. Az V. réteg interneuronokat és piramis sejtet is

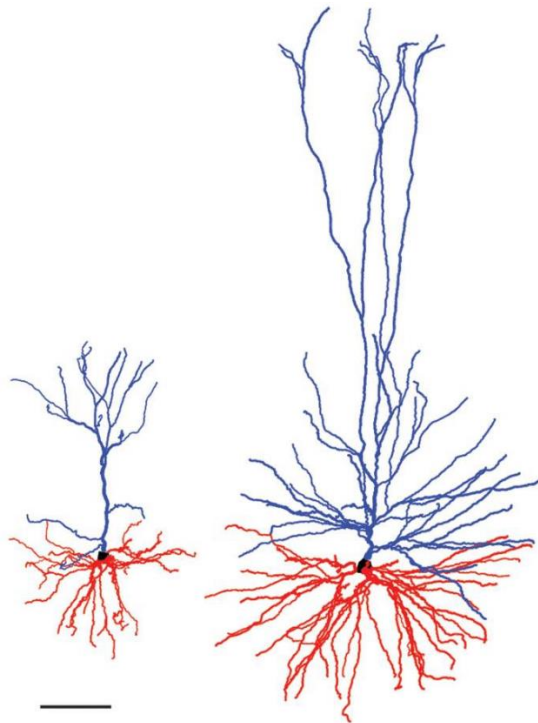
tartalmaz melyek axonjai az agykéreg fő efferens pályáit adják. A VI. réteg változatos formájú és méretű neuronokból épül fel, illetve ki- és belépő rostokkal tarkított.

Az emberi és rágcsáló agykéreg összehasonlítása

Az emberi agykéreg kiterjedése jelentősen nagyobb, mint a rágcsálóké. A nyilvánvaló méretbeli különbségek mellett azonban strukturális differenciákat is meg lehet figyelni a két faj között. Az emberi agykéreg vastagsága jelentősen meghaladja a rágcsálókét. A legmarkánsabb eltérés a II/III. réteg kiterjedésében tűnik fel, az evolúció során ezen agykérgi réteg mutatta a legnagyobb mértékű méretbeli növekedést. E citoarchitektonikai különbségek mellett a szövetet felépítő sejtek szintjén is ismertek különbségek. Az emberi agyban számos olyan sejtípus figyelhető meg, amely rágcsálókban nincs jelen. Ilyenek például a neuronok közül az elsőként Cajal által leírt kettős-csokor sejtek (Ballesteros Yáñez et al., 2005), a csipkebogyó sejtek (Boldog et al., 2018), illetve gliák közül az interlamináris asztrociták (Oberheim et al., 2009).

A patkány és ember piramis sejtek dendritjeinek morfológiáját vizsgálva is jelentős különbségeket tapasztalhatunk a két fajban. Az emberi piramis sejtek mérete illetve morfológiai komplexitása - ideértve a dendritek összesített hosszát, illetve a dendritfán az elágazások számát - jelentősen nagyobb (Deitcher et al., 2017; Mohan et al., 2015). Az emberi piramis sejtek dendritjein mintegy 40%-kal sűrűbben helyezkednek el dendrittüskék mint a rágcsálók esetében. A dendrittüskék morfológiai jellemzői is jelentősen eltérnek a két fajban. A tüskék nyaki része nagyjából 30%-kal hosszabb emberben mint egerekben (Benavides-Piccione et al., 2002). Az anatómiai különbségeken felül a piramis sejtek különböző fiziológiai eltéréseket is mutatnak különböző fajokban. A szuperficiálisan elhelyezkedő piramis sejtek nyugalmi membránpotenciálja depolarizáltabb emberi agyszövetben mint egérben. Ez a különbség egyre inkább csökken ahogy a mélyebb rétegek felé haladunk. A sejtek bemenő ellenállása egér szövetben e tengely mentén egyre nő, ám ezzel ellentétben emberi szövetben csökken az értéke ahogy az egyre mélyebben elhelyezkedő sejteket vizsgáljuk. A piramis sejtek „sag” potenciálja sokkal nagyobb emberben, illetve a mélyebb rétegi sejtek felé haladva növekvő tendenciát mutat. A humán piramis sejtek membránjának rezonáns tulajdonságai is különböznek az egerekhez képest. E jelenségek hátterében az emberi piramis sejtekben megfigyelhető magasabb

hiperpolarizáció aktivált kationcsatorna (*hyperpolarization activated cyclic nucleotidic gated nonselective cationic channels, HCN*) expresszió áll (Kalmbach et al., 2018).



2. ábra: Rágcsáló és ember II/III. rétegi piramisneuronok morfológiája.

Az apikális (kék) és bazális (piros) dendritok hossza, illetve az elágazások száma jelentősen nagyobb a humán piramisneuronok esetében. Skála: 100 μm (Deitcher és munkatársai, 2017 nyomán)

Az ember agykérgi mikrohálózatának működéséről az elmúlt két évtizedben kezdtünk el információkat gyűjteni. Már a korai kísérletek alapján egyértelművé vált, hogy funkcionális jellemzőik sokban eltérnek a két fajban. Emberi agyszövetben akár egyetlen akciós potenciál képes hosszan tartó eseménysorozatok kialakítására (Molnár et al., 2008; Komlósi et al., 2012). Az ember piramisneuronjainak axonterminálisaiban a transzmitter felszabadulás is különbözik a patkányban megfigyelhetőtől. A preszinaptikus boutonok aktív zónái ugyan emberben kisebbek, ám amíg a patkány piramisneuronok aktív zónájában átlagosan egy transzmitter felszabadulási hely található, addig az emberben egy aktív zónában több felszabadulási hely figyelhető meg, mely alapján elmondható, hogy e neuronok működésére jellemző a multivezikuláris transzmitter felszabadítás (Molnár et al., 2016). A transzmitter felszabadulás ilyen jellegű különbségei állhatnak azon jelenség mögött, hogy a piramisneuronok az emberi agykéregben képesek „nagyon nagy serkentő poszt-szinaptikus potenciálok” (*excitatory postsynaptic potential, EPSP*) kialakítására, mely a mikrohálózatban komplex eseményeket hozhat létre. Ezen erős kapcsolatok hosszú távú depressziója a komplex események előfordulásának gyakoriságát jelentősen csökkenti (Szegedi et al., 2016). A neuronok közötti szinaptikus kapcsolatok megerősödéséhez szükséges aktivitás mintázatok időbeli tulajdonságai

is különbözőek a rágcsálók és ember esetében. A humán piramissejtekre érkező serkentő bemenetek aktivációjához képest -120-tól +5 ms időintervallumon belül a sejt tüzelése a szinapszis megerősödéséhez vezet, míg +10-től +50 ms-ig a szinaptikus jelátvitel gyengülését okozza. Ezzel szemben patkányban -120-tól +50 ms-ig egyaránt a szinaptikus szignáltranszdukció erősödése figyelhető meg, melynek csúcsa 0 ± 10 ms közé esik (Verhoog et al., 2013).

E különbségek mögött rejlő biológiai mechanizmusok a két faj dendritjeinek passzív és aktív tulajdonságainak eltéréseiben keresendők.

A piramissejtek dendritjeinek passzív és aktív működése

A dendritek szignáltranszdukcióban betöltött szerepéről Cajal elsőként próbált magyarázatot adni. Hipotézise szerint az információ áramlás iránya az idegszövetben a szinapszis, dendrit, sejttest, axon, szinapszis útvonalon történhet. Elméletét a későbbi kutatások alátámasztották, ám a dendritekben zajló jelátviteli folyamatok részletesebb megismerésére egészen az 1990-es évekig várni kellett. Ekkor két olyan technikai lehetőség is kibontakozóban volt melyekkel a nyúlványok direkt vizsgálatára is lehetőség nyílt. Egyrészt az elektrofiziológiai módszerek váltak annyira fejletté, hogy akár a dendritekről is sikeresen lehetett elvezetni elektromos jeleket, illetve új funkcionális képalkotó technikák fejlesztése is erre az időszakra tehető.

Az agykérgi sejtek membránfelületének jelentős részét a dendritikus membrán adja. A dendriteknek fontos szerepe van a szinaptikus jelek integrációjában, ez által a sejt kimenetére jelentős hatással vannak. Az egyedi EPSP-k kevés kivételtől eltekintve képtelenek a sejt membránpotenciálját a feszültségfüggő Na^+ csatornák küszöbpotenciáljáig depolarizálni, ehhez a szinaptikus bemenetek szummációjára van szükség. A nyúlványra érkező bemenetek összegződésében mind passzív- mind aktív elektromos jelenségek részt vesznek. A passzív elektromos tulajdonságok következtében a PSP-k a kialakulási helyüktől tovaterjedve egyre kisebb amplitúdóval rendelkeznek. E jelenséget hívjuk attenuációnak. Az dendritikus membrán aktív komponensei többek között a dendritikus jeleknek az attenuációját hivatottak csökkenteni.

Alapvetően három olyan passzív elektromos tulajdonsága van a dendritfának, amelyek kialakítják annak elektrotónusos profilját. A specifikus membrán ellenállás (R_m), a specifikus

membrán kapacitás (C_m), és az intracelluláris ellenállás (R_i) (Castillo & Moore, 1959; Eyal et al., 2016). A dendritek passzív tulajdonságai nem csak az attenuációra, de a nyúlványokban az elektromos jelek terjedési sebességére is hatással vannak. A R_m az adott membránon található csatornák konduktanciájával fordítottan arányos. A piramissejtek dendritjein a különböző ioncsatornák nem mutatnak egyenletes eloszlást. A HCN a disztális dendritek felé haladva egyre nagyobb mennyiségben találhatóak meg a dendritikus membránban, így kialakítva a dendritekre jellemző nem uniform R_m -t (Berger et al., 2001; Lörincz et al., 2002; G Stuart & Spruston, 1998; Williams & Stuart, 2000). Ennek köszönhetően a disztális dendritek elektromos kompartmentalizációja jelentős (Beaulieu-Laroche et al., 2018b; Golding et al., 2005). A piramissejtek különböző dendrit szegmensei így képesek lehetnek párhuzamosan, összetettebb számítási feladatok elvégzésére is (London & Häusser, 2005).

A neuronok R_m és C_m tulajdonságai határozzák meg a sejtre jellemző időállandót (τ) mely a jelek terjedési sebességét nagyrészt meghatározza. A sejt elektromos kapacitása alapvetően a sejtmembránjának felületétől és a sejtmembrán vastagságától függ. A különböző sejtek C_m értékének meghatározásához számos modell készült, melyek egybehangzóan azt mutatják, hogy a különböző neuronok hasonló $\sim 1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ fajlagos membránkapacitással rendelkeznek (Major et al., 1994; Norenberg et al., 2010; Roth & Häusser, 2001). A C_m direkt mérésére Gentet és munkatársai vezettek be egy elektrofiziológiai eljárást. Ennek lényege, hogy a rendkívül szerteágazó és sok esetben dendrittüskékkel tarkított nyúlványokkal rendelkező sejtek felületének meghatározása helyett a sejtől patch elektródával óvatosan kihúzzák a sejtmagot, úgy, hogy a szomatikus membrán azt körül zárja. Az így húzott „*nucleated patch*” felületének kiszámítása lényegesen leegyszerűsödik. A *nucleated patch* kapacitását viszonylag könnyű lemérni és így felületegységre vonatkoztatva azt képet kaphatunk a sejt C_m -ről (Gentet et al., 2000). Az ember és patkány piramissejtek C_m értékéről ellentmondásos adatokat találhatunk a szakirodalomban. Egyes mérések szerint a humán piramissejtek nagyjából fele akkora $\sim 0.45 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ C_m -mel rendelkeznek, mint a patkány neuronjai. Számítógépes modellezéssel Eyal és munkatársai arra a következtetésre jutottak, hogy az elektromos jelek terjedési sebessége a sejtekben ennek köszönhetően majdnem kétszer gyorsabb lehet az emberben mint rágcsálókban (Eyal et al., 2016). Habár munkájukban elektrofiziológiai méréseik és modelljük alapján is a humán sejtek fajlagos membránkapacitását $\sim 0,45 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ -ban határozták meg, a sejtmembrán vastagságában nem találtak különbséget a két fajban, mely ellentmondásossá teszi e munkát. Az ember neuronjainak C_m értékéről ezen kívül mindössze két tanulmány tesz említést. Laroche-Beaulieu és munkatársai V. rétegi piramissejtek C_m

mérése során nem találtak különbséget a rágcsáló és ember között (Beaulieu-Laroche et al., 2018b), illetve hasonló eredményre jutottak Gooch és munkatársai II/III. rétegi piramissejtek vizsgálata során (Gooch et al., 2022). A neuronok C_m értékének meghatározása humán mintákban ezért nélkülözhetetlen, ha a sejtek vezetési sebességét kívánjuk összehasonlítani.

Az R_i mértékét egy nyúlványnak két tulajdonsága befolyásolhatja. Egyrészt az intracelluláris tér összetétele, melyben nem csak az citoplazma ellenállást de a sejtorganelumok elhelyezkedését is figyelembe kell venni (Li et al., 2004). Illetve az adott nyúlvány keresztmetszetének területe, egyszerűsítve a nyúlvány vastagsága. Az R_i változása jelentősen befolyásolhatja egy dendritre érkező bemenetek összegződésének temporális dinamikáját (Bekkers, 2011). Az R_i értékének megváltozására példa lehet a dendrittüskék nyaki részének citoskeletális átrendeződése illetve sejtorganelumok transzportja e régiókba (Bloodgood & Sabatini, 2005; Li et al., 2004). Az R_i csökkenésének következtében a nyúlványok vezetési sebessége nő (Castillo & Moore, 1959).

E passzív elektromos tulajdonságok mellett a dendriteken számos feszültségfüggő aktív konduktancia is jelen lehet, melyek kialakítják a dendritek regeneratív eseményeit, illetve hozzájárulnak a szinaptikus jelek nemlineáris összegződéséhez. Habár régóta elfogadott nézet, hogy az akciós potenciálok (AP) az axon iniciális szegmentum területén alakulnak ki, már az 1950-as években megfigyelték, hogy a dendritek környékén is létrejöhetnek olyan elektromos események, melyek hasonlóak az AP-khez, ám a dendritekre érkező bemenetek stimulációját követően előbb jelennek meg mint a szómához és az axon iniciális szegmenthez köthető „populációs spike”-ok (Cragg & Hamlyn, 1955). E megfigyelések arra engedtek következtetni, hogy a dendriteken is lehetnek olyan feszültségfüggő csatornák amelyek képesek „dendritikus spike”-ok (DS) kialakítására. E feltevések direkt kísérletes bizonyítása az 1970-es években került sor (Llinas & Nicholson, 1971; Wong et al., 1979). Hippocampális piramissejteken a dendritekbe történő rövid áraminjekcióra illetve glutamát *uncageing* hatására gyors DS-ok alakulnak ki, melyek keletkezése tetrodotoxinnal (TTX) blokkolható (Gasparini & Magee, 2006; Golding & Spruston, 1998; Kim et al., 2015). Hosszabb áraminjekcióra illetve erőteljesebb glutamát *uncageing* után TTX-re inszenzitív szélesebb DS-ok alakulnak ki melyeket feszültségfüggő Ca^{2+} csatorna blokkolókra érzékenyek (Gidon et al., 2020; Golding et al., 1999; Magó et al., 2021; Wei et al., 2001). Mind hippocampális mind V. rétegi piramissejteken megfigyelhető, hogy erős szinaptikus stimulációra NMDA receptor mediált DS-ok is megjelennek (M. E Larkum et al., 2009; Makara & Magee, 2013; Schiller et al., 2000). Ez utóbbi típusa a DS-oknak annyiban különbözik a feszültségfüggő csatornák által mediált

DS-októl, hogy a glutamát receptorhoz való kötésének szükségessége miatt képtelen regeneratív módon terjedni a dendriteken, így lokálisan a stimulált szinapszisok közelében lehet csak megfigyelni. A DS-ok létrejöttében tehát fontos szerepet játszanak a feszültségfüggő Na^+ és Ca^{2+} csatornák, illetve az NMDA receptorok. Kialakulásukat elősegíti, ha a dendrit R_m értéke magasabb, illetve, ha átmérője kisebb. Az ilyen vékony dendriteken a szinaptikus áramok nagyobb feszültség választ tudnak kialakítani, így kevesebb szinapszis aktivációja is elég a DS megjelenéséhez (Katz et al., 2009; Losonczy & Magee, 2006). Ha egy DS a dendritfán elektrotónusosan távol alakul ki az axon iniciális szegmentumtól akkor az attenuáció miatt önmagában képtelen AP generálására. Ezzel ellentétben, ha egy olyan dendrit szakasz válik aktívvá mely elektrotónusosan közel van az axon iniciális szegmentumhoz akkor az onnan a szómába terjedő DS a szinaptikus aktivitást követően kis látenciával képes AP kialakítására.

Mindettől függetlenül, akár DS jelenlétében vagy akár hiányában, ha az axon iniciális szegmentumon kialakul egy AP akkor az visszaterjed a sejttestbe, majd a dendritekbe is. A dendritekben megfigyelhető hagyományos AP-kat visszaterjedő akciós potenciáloknak hívjuk (*backpropagating action potentials*, bAP).

Visszaterjedő akciós potenciálok

Az AP dendritekbe történő aktív propagációját számos sejttypusban már megfigyelték úgy mint neokortikális V. rétegi piramissejteken (G. J. Stuart & Sakmann, 1994), II/III. rétegi piramissejteken (Waters et al., 2003), *substantia nigra* sejtjein (Häusser et al., 1995), hippocampális piramissejteken (Spruston et al., 1995) és interneuronokon (Hu et al., 2010), hippocampális szemcsesejteken (Brunner & Szabadics, 2016), illetve gerincvelői neuronokban (M. E. Larkum et al., 1996). A bAP-k terjedését a feszültségfüggő Na^+ (Na_v) csatornák segítik elő. E csatornák denzitása a piramissejteken dendritjein viszonylag alacsony, továbbá a disztális dendritikus régiók felé haladva fokozatosan csökkenő eloszlást mutatnak (Lorincz & Nusser, 2010; G. J. Stuart & Sakmann, 1994). A Na_v csatornák aktivitás függő inaktivációjának köszönhetően elnyújtott AP sorozatban az egymást követő bAP-k attenuációja egyre markánsabb (Golding et al., 2001; Spruston et al., 1995; Stuart et al., 1997). Az egyes AP-k visszaterjedve a dendritbe a Na_v csatornák egy részét elnyújtott inaktív állapotba kényszerítik, így a következő AP érkezésekor már csekélyebb számú Na_v csatorna képes a jelet erősíteni, így annak amplitúdója jelentősen csökken. A Na_v csatornák által létrehozott aktív konduktanciák

tehát a bAP-k attenuációját hivatottak csökkenteni, ám a jelek terjedési sebességére nincsenek hatással (Acker & Antic, 2009; M. E. Larkum et al., 2001).

A bAP-k fontos szerepet játszanak a szinaptikus jelátvitel erejének megváltozásában. A sejtekre érkező bemenetek erejének dinamikus változása lehet az emléknymok kialakulásának celluláris alapja. Egyes feltételezések szerint az emléknymok közösen aktívvá váló sejtegyüttesek működése révén kerülnek tárolásra vagy éppen előhívásra. A mikrohálózat elemei között a szinaptikus kapcsolatok megerősödve képesek ilyen sejtegyüttesek kialakítására. A Donald Hebb által felvázolt hipotézisnek miszerint a szinapszis megerősödik, ha a pre- és a posztszinaptikus sejt időben összehangoltan válik aktívvá, a sejszintű mechanizmusa mely kísérletesen is vizsgálható ez az AP időzítés függő plaszticitás (*spike timing dependent plasticity*, STDP). Ha a preszinaptikus sejt által kiváltott EPSP-hez egy posztszinaptikus AP-t társítunk, a szinaptikus kapcsolat köztük megerősödik. Ennek hátterében az áll, hogy a preszinaptikus sejt által felszabadított glutamát neurotranszmitter köt a posztszinaptikus membrán NMDA receptoraihoz. Az NMDA receptorok konduktanciájának megnövekedéséhez azonban a csatorna pórusban található Mg^{2+} ion feszültségfüggő eltávolítása szükséges. Ha a preszinaptikus sejt aktivitását követően rövid időn belül egy bAP depolarizálja a dendritet az NMDA receptorokon keresztül Ca^{2+} ionok jutnak a sejtbe, melyek olyan szignáltranszdukciós utat indítanak meg amely végén a posztszinaptikus membránba további ionotróp glutamát receptorok (többnyire AMPA receptorok) helyeződnek ki, így elősegítve a szinaptikus jelátvitel erősödését. A bAP-k hatással vannak továbbá a sejt tüzelési tulajdonságaira is. E hatásukat alapvetően kétféle módon érhetik el. Egyrészt a bAP-k olyan áramokat alakíthatnak ki melyek visszafolyva a szómába hozzájárulnak az utódepolarizáció (*after depolarization*, ADP) kialakításához, amely a sejtek gyors AP sorozatot („burst”-öt) mutató tüzelését facilitálja (Lemon & Turner, 2000). Az V. rétegi piramissejtekben e folyamatban a feszültségfüggő Ca^{2+} csatornák vesznek részt (Williams & Stuart, 1999), míg a hippocampusban az A és D típusú feszültségfüggő K^{+} csatornák részvétele bizonyított, oly módon hogy gátlásuk következtében a sejtek *burst* tüzelést mutatnak (Magee & Carruth, 1999; Metz et al., 2007). A másik lehetséges mechanizmusa a bAP-k burst tüzelést való elősegítésének abban rejlik, hogy a sejt magas frekvenciájú tüzelése önmagában képes Ca_v dependens DS-ok kialakítására (Kampa & Stuart, 2006; M. E. Larkum et al., 1999). A bAP-k továbbá elősegítik a szinaptikus aktivitás által kialakuló DS-ok megjelenését, ennek következtében hozzájárulnak a sejt burst tüzeléséhez (M. E. Larkum et al., 2004; J., Stuart & M. Hausser 2001).

Információáramlás az agykérgi mikrohálózatokban

A mikrohálózatok temporális felbontásában nincs különbség a patkány és ember között. A piramissejtről kosársejtekre érkező serkentő bemenetek szinaptikus látenciája azonos a két fajban (Molnár et al., 2016). A piramissejtek közötti kommunikáció szintén hasonló temporális jellemzőkkel bír emberben és rágcsálóban (Campagnola et al., 2022). Mivel a sejtek mérete az emberi agykéregben nagyobb, mint a patkány agykéregben az információt hordozó elektromos jeleknek így gyorsabban kell terjednie a mikrohálózat elemeiben ahhoz, hogy az időbeli felbontás ne szenvedjen csökkenést. Belátható, hogy a külvilágból érkező jelek gyors feldolgozása fontos, hogy egy élőlény ne kerüljön szelekciós hátrányba. Felmerül a kérdés, milyen evolúciós újítás állhat annak hátterében, hogy a humán mikrohálózat az azt felépítő sejtek nyilvánvaló méretbeli különbségei ellenére hasonló időbeli felbontással rendelkezik, mint a rágcsáló mikrohálózat? A sejtek közötti kommunikációban résztvevő nyúlványok működésében milyen különbségek lehetnek?

Célkitűzések

PhD munkám során célul tűztük ki:

1. a humán és rágcsáló neuron hálózatok temporális dinamikájának vizsgálatát páros whole cell elvezetésekkel,
2. a dendritikus és axonális vezetési sebesség meghatározását szimultán szomatikus és dendritikus whole cell elvezetésekkel mind patkány, mind ember agykérgi piramissejtjeiben,
3. a dendritikus vezetési sebesség különbségeit okozó mechanizmusok vizsgálatát.

Közreműködések

Kísérletek tervezése: Dr. Molnár Gábor és Prof. Tamás Gábor segítségével végeztem

Páros elvezetés: A labor korábbi munkatársainak közreműködésével végeztem

Dendritikus elvezetés: Lákovics Rajmund segítségével végeztem

Axonális elvezetés: Lákovics Rajmund segítségével végeztem

Nucleated patch: Lákovics Rajmund segítségével végeztem

Anatómiai processzálás: Mezei Leona, Tóth Éva és Dr. Kocsis Katalin végezték

Elektronmikroszkópos munka: Dr. Baka Judith végezte

Sejt rekonstrukció: Lehóczki Bettina végezte

Digitális rekonstrukció: egyedül végeztem

Modellezési munka: Dr. Szűcs Attila végezte

Kiértékeléshez használt script-ek megírása: egyedül végeztem

Adatok kiértékelése és vizualizálása: egyedül végeztem

Anyagok és módszerek

Túlélő agyszelet preparátumok készítése

Kísérleteinket túlélő neocortikális agyszelet preparátumokon végeztük a Szegedi Tudomány Egyetem Etikai Bizottságának engedélyével (ref. no. XX/897/2018, ref. 75/2014) a Helsinki Nyilatkozat figyelembevételével. Munkánk során fiatal felnőtt (P20-45) Wistar patkányokat (nemre való tekintet nélkül), illetve műtéti úton eltávolított emberi agykéregi szövet darabokat használtunk fel.

A patkányok halothánnal történő altatása után az állatokat dekapitáltuk, majd a koponyát felbontva agyukat eltávolítottuk. Az emberi agyszövet-mintákat a műtőben hideg mesterséges agy-gerincvelői folyadékba helyeztük (melynek összetétele megegyezett az agyszeletek készítése során használt oldatával, lásd később) majd a szövetdarabok transzportálása során végéig hidegen tartottuk. Az emberi és patkány agyszöveteket ettől kezdve azonos módon dolgoztuk fel. Az agykéregből 320 μm vastag koronális szeleteket készítettünk. Az agyszeletek metszése hideg (4°C) magas szacharóz tartalmú mesterséges agy-gerincvelő folyadékban történt, melynek összetétele mM-ban kifejezve a következő volt: 75 szacharóz, 84 NaCl, 2.5 KCl, 1 NaH_2PO_4 , 25 NaHCO_3 , 0.5 CaCl_2 , 4 MgSO_4 , 25 D-(+)-glükóz. Vágást követően az agyszeleteket 36°C -on inkubáltuk 30 percig, ezt követően a folyadékot fokozatosan lecseréltük alacsony Ca^{2+} tartalmú mesterséges agy-gerincvelő folyadékokra, melynek összetétele a következő volt mM-ban kifejezve: 130 NaCl, 3.5 KCl, 1 NaH_2PO_4 , 24 NaHCO_3 , 1 CaCl_2 , 3 MgSO_4 , 10 D-(+)-glükóz. Az inkubációt követően 17°C -on tartottuk az agyszeleteket az alacsony Ca^{2+} tartalmú mesterséges agy-gerincvelő folyadékban egészen a kísérlet megkezdéséig. Méréseinkhez az agyszeleteket 36°C -os kamrába helyeztünk, amelyen keresztül elvezető oldatot áramoltattunk 4-5 ml/perc sebességgel. A mérő oldat összetétele megegyezett az alacsony Ca^{2+} tartalmú mesterséges agy-gerincvelő folyadékéval, kivéve a magasabb 3 mM CaCl_2 és alacsonyabb 1.5 mM MgSO_4 koncentrációt. Az emberi szövet szállítása, az agyszeletek készítése, illetve a mérés közben használt oldatok kivétel nélkül folyamatosan telítve voltak 95% oxigén és 5% szén-dioxid keverékével.

Elektrofiziológiai mérések

Az elektrofiziológiai méréseink során szimultán patch-clamp elvezetéseket végeztünk. A sejteket először differencia interferencia kontraszt (DIC) videomikroszkópiával tettük láthatóvá. A sejtestek formája és elhelyezkedésük alapján választottuk ki a mérésre szánt 2-3 rétegi piramissejteket. A szomatikus páros elvezetésekhez használt pipettákat (3-5 M Ω) intracelluláris oldattal töltöttük meg melynek összetétele a következő volt: 126 mM K-glükonát, 4 mM KCl, 4 mM ATP-Mg, 0,3 mM GTP-Na₂, 10 mM HEPES, 10 mM keratin-foszfát és 8 mM biocytin. A szomatikus whole-cell konfiguráció kialakítása után a sejtek passzív elektromos jellemzőit illetve tüzelési mintázatát 800 ms hosszú, 0 pA parancs-áram mellett, -100 pA-es kezdő négyszög impulzussal vizsgáltuk, melyet ismételve 20 pA-rel növeltünk addig, amíg a sejt tüzelési frekvenciája az átfutáson belül az átlagosan 10 Hz-et el nem érte. A piramis sejtek közötti szinaptikus kapcsolatok jelenlétét current-clamp módban teszteltük. Amennyiben a preszinaptikus sejten kiváltott akcióspotenciál után rövid látenciával (<2 ms) EPSP-t tapasztaltunk feltételeztük a monoszínaptikus kapcsolat jelenlétét és a mérés befejezése után a szeletet fixáltuk további anatómiai vizsgálatok céljából.

A szomato-dendritikus illetve szomato-axonális szimultán elvezetésekhez használt intracelluláris oldat további 10 μ M Alexa 594 hidrazid fluorescens festéket is tartalmazott. Méréseinket a páros elvezetésekhez hasonlóan DIC videomikroszkópos képalkotás alkalmazásával kezdtük. A szomatikus whole-cell konfiguráció kialakítása után regisztráltuk a sejt tüzelési mintázatát a korábban már leírtak szerint. Ezt követően 5-10 percen keresztül hagytuk, hogy az intracelluláris oldat a dendritekbe diffundáljon. Ezt követően epifluorescens illetve 2 foton képalkotás segítségével láthatóvá tettük a mért sejt dendritarborizációját, majd egy másik elektródával (12-25 M Ω) célzott dendritikus elvezetést végeztünk. A szomato-dendritikus elvezetések során 800 ms hosszú a sejt reobázisánál nagyobb szomatikus áraminjekciót végeztünk és a kialakuló akciós potenciálok dendritekbe történő visszaterjedését regisztráltuk. A szimulált EPSP elvezetésekhez rövid leszálló „rámpa” stimulációt alkalmaztunk melynek amplitudóját úgy állítottuk be, hogy a szomatikus elektródán mért jel amplitúdója 1-3 mV közé essen. A mérések végeztével a festékkel feltöltött sejtekről fluorescens módban Z irányú sorozat felvételt vettünk fel melynek segítségével későbbiekben lehetőségünk nyílt az elvezetési pontok közötti dendritszakaszok hosszának lemérésére.

A specifikus membránkapacitás meghatározásához *nucleated patch* elvezetéseket végeztünk. Ezen mérések során cézium-klorid alapú intracelluláris oldatot használtunk a korábban már leírt protokoll szerint (Gentet et al., 2000). A méréseket sylgard-dal bevont elektródákkal (3-5 M Ω) végeztük a pipetta kapacitásának minimalizálása céljából. A

szomatikus whole-cell konfiguráció kialakítás után a sejtmagot kihúztuk a sejtéből ügyelve arra, hogy a patch minősége ne romoljon. Amennyiben a -70 mV tartó potenciál mellett több mint 200 pA leak áramot mértünk, akkor a mérést nem folytattuk. A nucleated patch-et -70 mV-on tartva 300 rövid 10 ms-os -5 mV-os feszültség lépcsőt adtunk (Axon Multiclamp 700B). Ezt követően az elektródát óvatosan sylgardhoz nyomtuk a reziduális kapacitás meghatározása céljából (Gentet et al., 2000). A stimulációra kialakuló áramot 200 kHz-en digitalizáltuk (Molecular Devices, Axon Digidata 1440).

Mért sejtek anatómiai vizsgálata

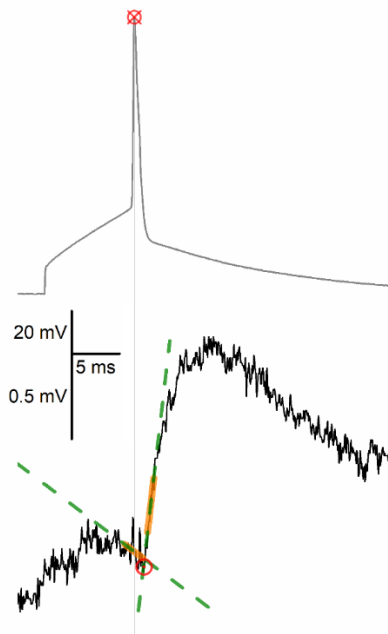
Az elektrofiziológiai kísérleteket követően a biocytinnel megjelölt idegsejteket tartalmazó agyszeleteket előkészítettük a fénymikroszkópos vizsgálatokra. Az agyszeleteket nitrocellulóz papír (Millipore, USA) közé helyeztük a fixálás során jelentkező deformáció elkerülése érdekében és 4% paraformaldehid, 15% pikrin sav és $1,25\%$ glutáraldehid tartalmú $0,1$ M foszfátpuffer oldatba ($\text{pH} = 7,4$) helyeztük és ezen oldatban tartottuk 4°C -on legalább 12 óráig. A fixáló oldatot többszöri $0,1$ M foszfátpuffer oldattal történő átmosással eltávolítottuk a szeletekről. Ezt követően 10% , majd 20% szacharóz tartalmú foszfátpuffer oldatba helyeztük a szeleteket, ami megóvjá a membránszerkezetet a későbbi fagyasztás során. Az agyszeleteket néhány másodpercig folyékony nitrogénben fagyasztottuk, ezt követően 10% -os zselatinba ágyaztuk és hideg foszfátpuffer oldatban újra metszettük 60 μm vastag metszetekre (Leica VT 1000S mikrotóm). A metszeteket tris pufferben oldott ($\text{pH} = 7,4$) avidin-biotin peroxidáz komplexben ($1:100$; Vector Labs) tároltuk 4°C -on egy éjszakán át. Az enzimreakcióhoz kromogénként $0,05\%$ -os $3'3$ -diaminobenzidine tetrahidrokloridot (DAB), oxidánsként pedig $0,01$ $\%$ -os H_2O_2 -ot használtunk. A szeleteket utó-fixáltuk 1% OsO_4 tartalmú $0,1$ M foszfátpuffer oldatban. Többszöri desztillált vízzel történő mosást követően pedig 1% -os uranil-acetáttal kezeltük és felszálló alkoholsorral dehidratáltuk a szeleteket. Végezetül epoxigyantába (Durcupan, SigmaAldrich, USA) ágyaztuk és tárgylemezre helyeztük. A metszeteket fénymikroszkóp alatt vizsgáltuk, illetve rekonstruáltuk (NeuroLucida). A lehetséges szinaptikus helyeket megjelöltük és a 3 dimenziós rekonstrukciók alapján lemértük a szómától való távolságukat.

Dendrit-hossz és vastagság mérése

A dendritikus és axonális elvezetések után készített Z-stackeken a mérési pontok közötti nyúlványszakaszokat rekonstruáltuk, és meghatároztuk hosszukat (ImageJ, Simple Neurite Tracer plugin, Longair et al., 2011). A rekonstruált szakaszok vastagságát az SNT „fitting” algoritmusával határoztuk meg (Arshadi et al., 2021). A dendriteket az átlagos vastagság értékükkel jellemeztük.

Elektrofiziológiai jelek analízise

Elvezetéseinket saját fejlesztésű python scriptekkel analizáltuk. Méréseinket ASCII formátumba kiexportáltuk (HEKA, Fitmaster). A páros elvezetések esetében a szinaptikus látenciát a preszinaptikus sejten kiváltott akciós potenciál és a posztszinaptikus sejten megjelenő EPSP onsetje közötti időkülönbségként határoztuk meg. Az EPSP-k onsetjét lineáris illesztések kereszteződési pontjának a mért adatra való visszavetítésével határoztuk meg (Fedchyshyn & Wang, 2007). Az alapvonalra való illesztést a posztszinaptikus jelen a preszinaptikus akciós potenciál csúcspontjának ideje körüli 2 ms-os szakaszra végeztük. E szakasz feszültség értékeinek átlagának és az EPSP csúcspont feszültségértékének különbsége az EPSP amplitúdója. A második illesztést az EPSP amplitúdójának 5-30%-ig tartó felszálló ágára végeztük. A két illesztett egyenes metszéspontját visszavetítettük a mérésünkre és e pontot határoztuk meg onsetként (3. ábra).



3. ábra: Az EPSP-k latenciájának meghatározása.

Felül: a preszinaptikus sejt egy akciós potenciálja (szürke). Az AP csúcsa piros x-szel jelölve. Alul: a posztzinaptikus sejten mért membránpotenciál-változás. Az alapvonalra és az EPSP felszálló ágára illesztett szaggatott vonalak metszéspontjának visszavetítése a jelre körrel jelölve. A preszinaptikus AP csúcsa és e pont közötti idődiferenciát használtuk szinaptikus késésként.

A szomato-dendritikus elvezetések analízise során a visszaterjedő AP-k látenciájának mérését a két elvezetési ponton mért hullámformák különböző pontjain is elvégeztük. Az amplitúdót az AP onset és csúcspont közötti feszültségkülönbségként determináltuk. Hasonlóan jártunk el a szomato-axonális illetve a szimulált EPSP elvezetésekénél is. A dolgozat ábráin a jelek csúcsnál mért latenciái és ezekből számolt sebesség értékek láthatóak. Függelékként megtalálható a különböző pontokon mért latencia és ezekből számolt sebesség, így az általunk mért adatok könnyen összehasonlíthatóak a szakirodalomban található mérésekkel, melyek hol az egyik, hol a másik kitüntetett mérési pontból származó adatokat mutatják be.

A specifikus membránkapacitás meghatározásához készített *nucleated patch* elvezetéseket Clampfit (Molecular Devices) programmal értékeltük ki. Az egyedi mérésekben belül a kapacitív tranzienseket átlagoltuk, majd kivontuk belőlük a mérés végén regisztrált reziduális kapacitás meghatározása céljából felvett átfutások átlagát. Az így kapott kapacitív tranziensek felszálló ágára exponenciális görbét illesztettünk, oly módon, hogy az illesztést a tranziens negatív csúcspontjától 10 μ s-al később kezdtük és a csúcspont után 300 μ s-mal határoztuk meg az illesztés végpontját. Az exponenciális illesztést extrapoláltuk a feszültség lépcső kezdőpontjáig. Az így kapott exponenciális görbe τ értékét használtuk a sejtmagot körülzáró membrán kapacitásának kiszámításához (9. ábra). A nucleated patch felületét a következő képlet szerint számoltuk ki:

$$A = (a + b)^2 * \frac{\pi}{4}$$

mely képletben a a sejtmag kisebb átmérője, b pedig a sejtmag nagyobb átmérője μm -ben kifejezve (9. ábra).

Membrán vastagság mérése

A sejtmembránok vastagságának mérését egy, a csoportunk korábbi publikációjához (Molnár et al., 2016) már felhasznált adatsoron végeztük. A transzmissziós elektronmikroszkópos képeken olyan membrán struktúrákat kerestünk melyek egyértelműen dendritekhez tartoztak, erre az adott metszeten a posztszinaptikus denzitás jelenlétéből következtettünk. A vastagság méréseket a posztszinaptikus denzitásoktól legalább 20 nm-re végeztük. A membránra merőleges vonalat húztunk és e vonal mentén megvizsgáltuk, hogy mely pontokon haladja meg a gradiens magnitúdó az 50-es küszöbértéket, majd a két pont távolságát lemértük a vonal mentén (lásd 9. ábra D).

Modellezés

Számítógépes modellt terveztünk, hogy megvizsgáljuk a dendritikus vastagság, az aktív és passzív membránparaméterek hatását az AP-k alakjára és terjedési sebességére. A modell egy szomatikus kompartmentből, egy axonális és egy dendritikus kábel kompartmentből állt, mindkettő 200 μm hosszúságú volt. Az axonális és a dendritikus kábel átmérőjét 1,6, illetve 1,2 mm értékre állítottuk be. A modellneuron szomatikus membránkapacitását 40 pF-re, míg a kábel kompartmentek felületi kapacitását 20 fF/mm² értékre. A szomatikus szivárgási konduktancia 1,0 nS volt, a szivárgási áram reverz potenciálja pedig -62 mV. A modell 7 feszültségfüggő áramot tartalmazott, nevezetesen a tranziens és perzisztens Na-áramok, a késleltetett egyenirányító K-áram, a h-áram, a lassan aktiválódó M-típusú K-áram, a magas feszültséggel aktiválódó Ca-áram és a Ca-dependens K-áram. A standard feszültségfüggő áramok kiszámítása a következőképpen történt:

$$I_i = g_i m_i^p h_i (E_i - V),$$

ahol i az egyedi áramtípust jelöli, g_i a csatornák maximális vezetőképessége, m_i az aktivációs változó, p az aktivációs kifejezés hatványa, h_i az inaktivációs változó (elsőrendű vagy hiányzó)

és E_i a reverz potenciál. Az aktiválási (m) és inaktiválási (h) differenciálegyenletek azonos alakúak (x vagy m vagy h):

$$\frac{dx}{dt} = \frac{x_{\infty}(V) - x}{\tau_x(V)},$$

ahol a feszültségfüggő állandósult állapotú aktiválást és inaktiválást szigmoidokkal írtuk le:

$$x_{\infty}(V) = \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \tanh\left(\frac{V - V_{x,1/2}}{V_{x,sl}}\right).$$

A szigmoidok $V_{x,1/2}$ középpontja és $V_{x,sl}$ meredeksége, valamint az egyéb kinetikai paraméterek az 1. táblázatban láthatók. Az aktiválás és inaktiválás időállandói a membránpotenciál harang alakú függvényei:

$$\tau_x(V) = (\tau_{x,max} - \tau_{x,min}) \left[1 - \tanh\left(\frac{V - V_{\tau x,1/2}}{V_{\tau x,sl}}\right)^2 \right] + \tau_{x,min}.$$

A differenciálegyenleteket a Heun-módszerrel oldottuk meg, fix 1 ms integrálási lépéssel. A feszültségfüggő tranziens Na-, M- és Kd-áramok az axonális és szomatikus kompartmentekhez, míg a perzisztens Na-, h-, Ca- és K(Ca)-áramok a szomatikus és dendritikus kompartmentekhez lettek hozzárendelve. A modellt a biológiai neuronoknál használt stimulációnak megfelelő áramlépcső protokollal teszteltük (0,5 s időtartamú négyszög impulzusok -100 pA-tól kezdődően, +20 pA-val növelve). A szimulált szomatikus áraminjekcióra kialakuló AP-k dendritbe történő visszaterjedésének késését a hullámforma csúcsánál mértük.

Curren t	g_{soma} nS	g_{den} nS/ μ 2	g_{ax} nS/ μ 2	E m V	p	$V_{m,1/2}$ mV	$V_{m,sl}$ mV	$V_{h,1/2}$ mV	$V_{h,sl}$ mV	$\tau_{m,max}$ ms	$\tau_{m,min}$ ms	$V_{m,1/2}$ 2 mV	$V_{m,sl}$ mV	$\tau_{h,max}$ ms	$\tau_{h,min}$ ms	$V_{h,1/2}$ mV	$V_{h,sl}$ mV
Na	3200		4730	55	3	-28	13	-56	-15	0.9	0.1	-68	32	6	0.5	-74	32
Na _p	0.2	0.3		55	1	-23	14			3	0.2	-70	50				
h	0.5	2.5		-40	1	-73	-16			100	40	-58	42				
K _d	70		190	-72	4	-24	17			8.4	0.5	-70	32				
M	7		13.9	-72	1	-28	17			80	15	-80	54				
Ca	4	6.8		90	2	-23	12	-53	-13	10	1.8	-54	30	50	6	-65	30
K(Ca)	4	17.1															

1. táblázat: A modellezés során használt paraméterek értékei.

Eredmények

Szinaptikus latenciák ember és patkány mikrohálózatban

Tapasztalható-e különbség az ember és patkány neokortikális mikrohálózatainak időbeli felbontásában? E kérdés már egy korábbi a kutatócsoportunk által publikált munka során felmerült (Molnár et al., 2016). Piramissejtekről gyorsan tüzelő interneuronokra érkező serkentő bemenetek vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a szinaptikus késés a két fajban hasonló ~1 ms, ám a humán sejtpárok esetében az interszomatikus távolság szignifikánsan nagyobb volt. E kísérlethez hasonlóan páros elvezetéseket végeztünk piramissejt-piramissejt sejtpárokból, annak vizsgálatára, hogy e kapcsolatnál is fennáll-e az interneuronokra érkező serkentő bemenetek vizsgálata során tapasztalt jelenség.

A páros elvezetések során mind a pre- mind a postszinaptikus sejtet current-clamp módban tartva a preszinaptikus sejtben kiváltott AP-t követő posztszinaptikus válaszok látenciáikat vizsgáltuk (4. ábra A,B). Eredményeink alapján elmondható, hogy nem találtunk szignifikáns különbséget a patkányokból (n=24), illetve a humán mintákból (n=30) mért páros elvezetésekben a szinaptikus látenciák között (4. ábra, C, patkány: $1,132 \pm 0,239$ ms, ember: $1,122 \pm 0,381$ ms, Mann-Whitney teszt: $P=0.657$). Az elektrofiziológiai méréseket követően a sejtpároknak egy részét, melyeken mind a preszinaptikus axonok mind a posztszinaptikus dendritek hiánytalanul jelölve lettek (n=5 patkány, n=8 ember) fénymikroszkópos analízisnek vetettük alá, mely során rekonstruáltuk nyúlványaikat (4. ábra, A,B). A lehetséges szinaptikus kontakt helyek sejttesttől való távolságát megmértük mind a poszt- mind a preszinaptikus sejteken. A preszinaptikus sejtek szinaptikus helyekig vezető axonjainak és a szinaptikus helyektől a posztszinaptikus sejt sejttestéig vezető dendritek hosszát lemértük, majd e két szám összegeként határoztuk meg az interszomatikus hosszt. Azokban az esetekben amikor egy sejtpár több szinapszissal is kapcsolódott egymáshoz a legrövidebb interszomatikus távolságot vettük figyelembe. Az így kapott eredmények alapján elmondható, hogy az emberi mintákból származó sejtpárok esetében szignifikánsan hosszabb interszomatikus távolságot tapasztaltunk a patkány mintákhoz képest (patkány: $262,22 \pm 53,639$ μm , ember: $385,7 \pm 74,277$ μm , két mintás t-teszt: $P = 0,008$, 4. ábra D).

4. ábra: 4. ábra: Páros elvezetések emberi és patkány piramisjeitekről.

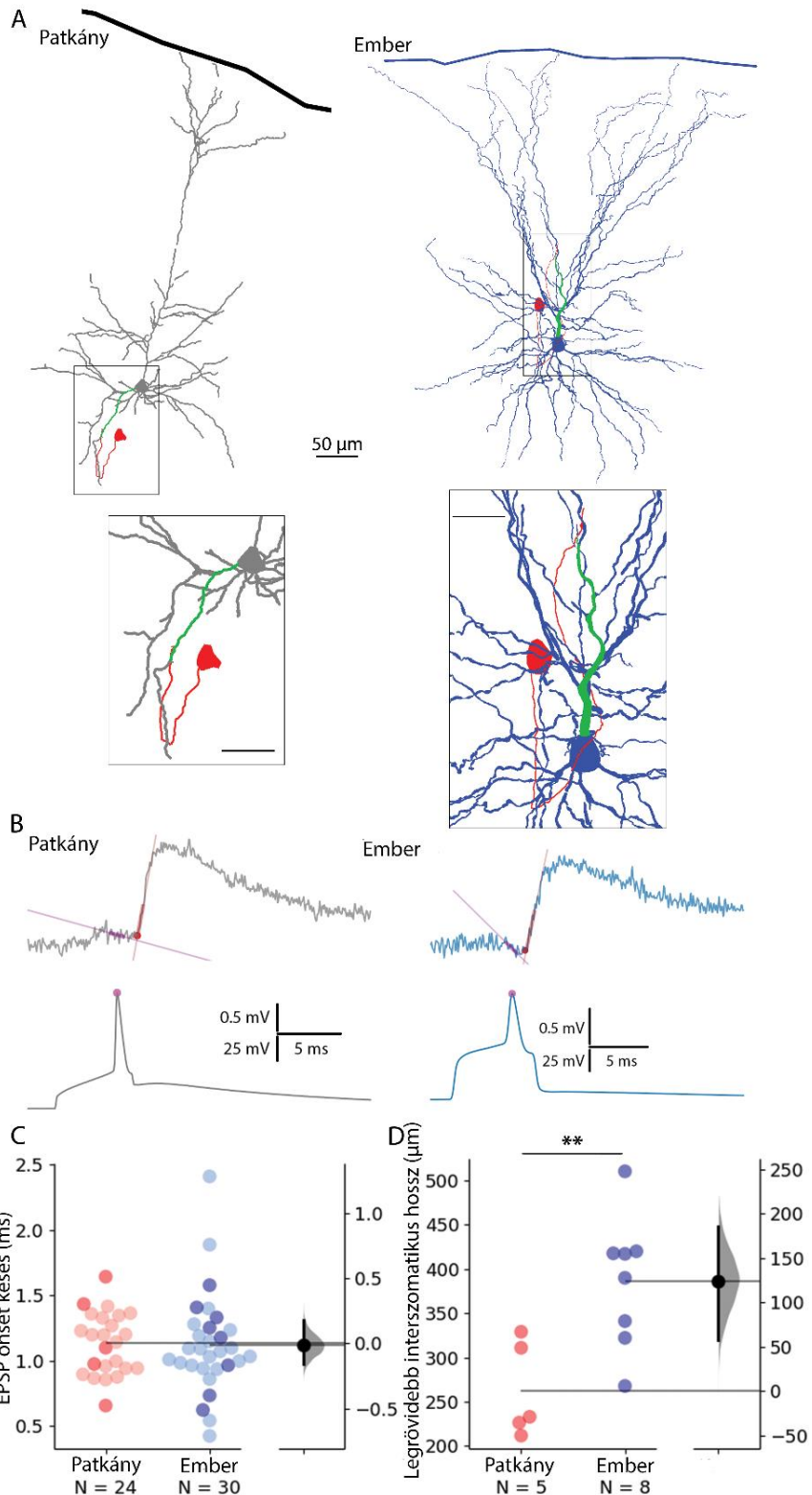
A: Reprezentatív rekonstrukció patkány sejt párról. A preszinaptikus sejt szómája és a feltételezett szinaptikus helyekre (piros nyilak) vezető axonok halvány szürkével ábrázolva. A posztzinaptikus sejt szómája és dendritfája sötét szürke, míg a szinaptikus helyekről a szómába vezető dendritszakaszok narancssárgával lettek kiemelve.

A rekonstrukció alatt egy reprezentatív átfutás látható. Alul a preszinaptikus sejt kiváltott AP melynek csúcspontja piros ponttal ki van emelve. Felette a posztzinaptikus sejt mért membránpotenciál. Az EPSP onset-je szintén piros ponttal van kiemelve. A latenciáértékeket az AP csúcsa és az EPSP onsetje közötti idő különbségként határoztuk meg (lásd: anyagok és módszerek).

B: Hasonló mint A, de emberi piramisajt párról. A rekonstrukción a preszinaptikus sejt szómája és axonja narancssárga, a posztzinaptikus sejt dendritjei és szómája kék, a szinapszistól a szómába vezető dendritek zöld színnel lettek kiemelve.

C: Szinaptikus latenciák patkány (piros) és ember (kék) piramisajt-piramisajt párok elvezetéséből számolva.

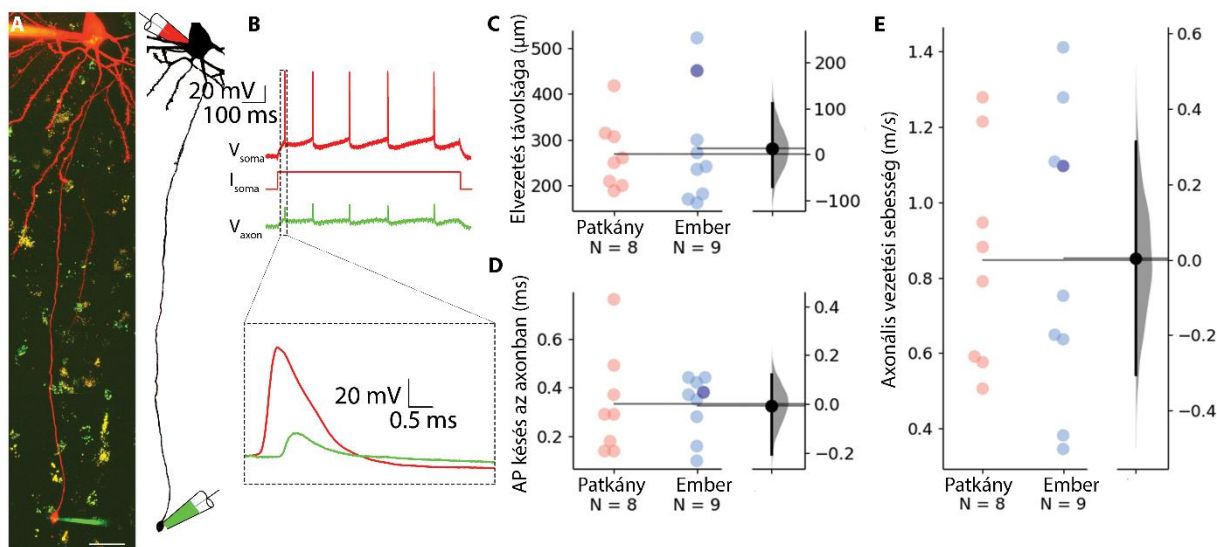
D: Minimális interszomatikus távolság. Az emberből származó sejtpárok esetén szingifikánsan hosszabb távolságokat tapasztaltunk a patkány sejtpárokhoz képest (t -teszt: $p=0,008$).



Ezen eredmények arra engednek következtetni, hogy az emberi neuron hálózatokban az információ terjedése gyorsabb a rágcsőkhöz képest. De mi okozhatja a két faj közötti különbséget? Két lehetséges magyarázat képzelhető el. Az egyik, hogy az emberi sejtekben a szinapszisokban az ingerület átvétele valamilyen oknál fogva gyorsabb lehet, illetve hogy maguk a sejtek nyúlványai vezetnek gyorsabban az elektromos jeleket. A kettő lehetséges magyarázat kombinációja is fennállhat, e kérdés megválaszolására a nyúlványok vezetési sebességének direkt mérése adhat választ.

Axonális terjedési sebesség mérése

Az axonális szignál propagáció sebességének meghatározásához szimultán whole-cell clamp elvezetéseket végeztünk II/III. rétegi piramissejtek szómájáról és axon bleb-jeiről. Az axonok az agyszelet készítése során előfordulhat, hogy elvágásra kerülnek. Ilyenkor a szelet felszínén egy kis membrán hólyag (bleb) alakul ki melyről viszonylag könnyen lehet whole-cell elvezetést végezni. A sejteken szomatikus áraminjekcióval kiváltott AP-ok két elektródán történő megjelenésük látenciájából és az axon hosszából hozzávetőlegesen ki lehet számolni az axonális vezetési sebességet. Mivel az AP az axon iniciális szegmentumon (AIS) alakul ki (Palmer & Stuart, 2006), és a kialakulás pontos pillanatát és helyét a szomatikus illetve az axonhólyag méréseiből nem tudjuk meghatározni, ezért az axon vezetési sebességének meghatározása e mérésekből hordoz némi pontatlanságot. Ennek kontrolálása céljából csak azokat az axonális elvezetéseket használtuk fel, ahol az AIS feltételezett pontjától (35 μm -re az axon eredésétől (Palmer & Stuart, 2006)) az axon hólyagig legalább 120 μm volt a nyúlvány hossza (5. ábra C). Méréseink során törekedtünk arra, hogy a mindkét fajból a páros elvezetések során tapasztalt axonális hosszokhoz hasonló távolságból vezessünk el. A két elvezetési ponton mért szomatikusan kiváltott AP-k csúcsának megjelenése közötti időkülönbségben nem találtunk szignifikáns különbséget a két fajban (5. ábra D). Méréseink alapján elmondható, hogy a patkány és ember II/III. rétegi piramissejtjeinek axonjain hasonló sebességgel futnak végig az AP-k (patkány: $n=8$, $0,848 \pm 0,291$ m/s, ember: $n=9$, $0,851 \pm 0,387$ m/s, kétmintás t-teszt: $p=0,282$, 5. ábra E).



5. ábra: Axonális elvezetések II/III. rétegi piramisisejtekből.

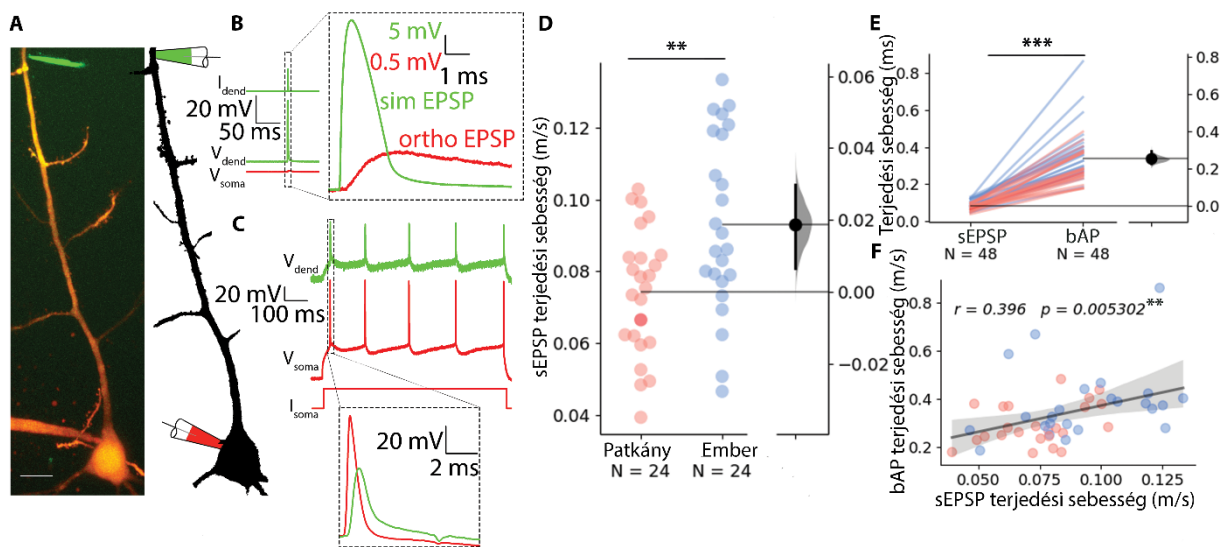
A: Reprezentatív 2 foton felvétel szomatikusan töltött (20 μ M Alexa-594) patkány piramisisejtről. **B:** A szomatikus áraminjekcióra kialakuló membránpotenciál változások szimultán felvétele a szomatikus elektródával (piros) illetve az axon hólyagra helyezett elektródával (zöld). A kinagyított rész az első kiváltott akcióspotenciált mutatja. **C:** Az elvezetéseink távolsága az axon mentén. **D:** A szomatikus és axonális elektródán mért AP-k csúcsai közötti latencia. **E:** Az axonokon mért jel terjedési sebessége. Egyik mért paraméterben sem találtunk szignifikáns különbséget. A sötétebb kék pont az A panelen bemutatott sejtet jelöli.

Mivel az axonális elvezetéseink eredményei nem magyarázzák a két faj közötti információ áramlási sebesség különbséget melyet a páros elvezetések során tapasztaltunk, a dendritek szisztematikus vizsgálatát kezdtük meg.

Szimulált EPSP-k terjedési sebességének vizsgálata

Szimultán elvezetések végeztünk piramisisejtek sejttestjéről és apikális dendritjeiről, melynek során mind dendritikus és szomatikus áraminjekcióra kialakuló membránpotenciál változások terjedését vizsgáltuk a sejteken. Elsőként a dendritikus elvezetési elektródán keresztül serkentő postszinaptikus áramhoz hasonló formájú áraminjekciót végeztünk, mely során a dendritikus elvezetési helyen kialakított membránpotenciálváltozás szómába történő terjedésének sebességét vizsgáltuk. E szimulált EPSP-k (sEPSP) terjedési sebessége szignifikánsan gyorsabb volt az ember dendritjeiben, mint a patkány dendritekben (patkány: $0,074 \pm 0,018$ m/s vs. ember: $0,093 \pm 0,025$ m/s, két mintás t teszt: $P = 0,004$, 6. ábra D). A

sEPSP mérések után megvizsgáltuk a sejtek dendritjeiben a szomatikus áraminjekcióval kiváltott AP-k visszaterjedésének sebességét. A bAP-k terjedési sebessége szignifikánsan nagyobb volt az sEPSP-k terjedési sebességéhez képest (6. ábra E). Ennek hátterében két különböző dolog állhat. Egyrészt a latencia értékeket a terjedő jelek csúcsánál mértük, és a különböző kinetikájú jelek különböző mértékben torzulhatnak a dendritikus filtráció következtében. Másrészt a bAP-k dendritbe történő visszaterjedése aktív folyamat, így abban a feszültség függő csatornák is részt vehetnek. Mindettől függetlenül szignifikáns korrelációt találtunk a dendritek ortogonális és retrográd vezetési sebessége között (6. ábra F).



6. ábra: Dendritikus elvezetés sEPSP áraminjekcióval.

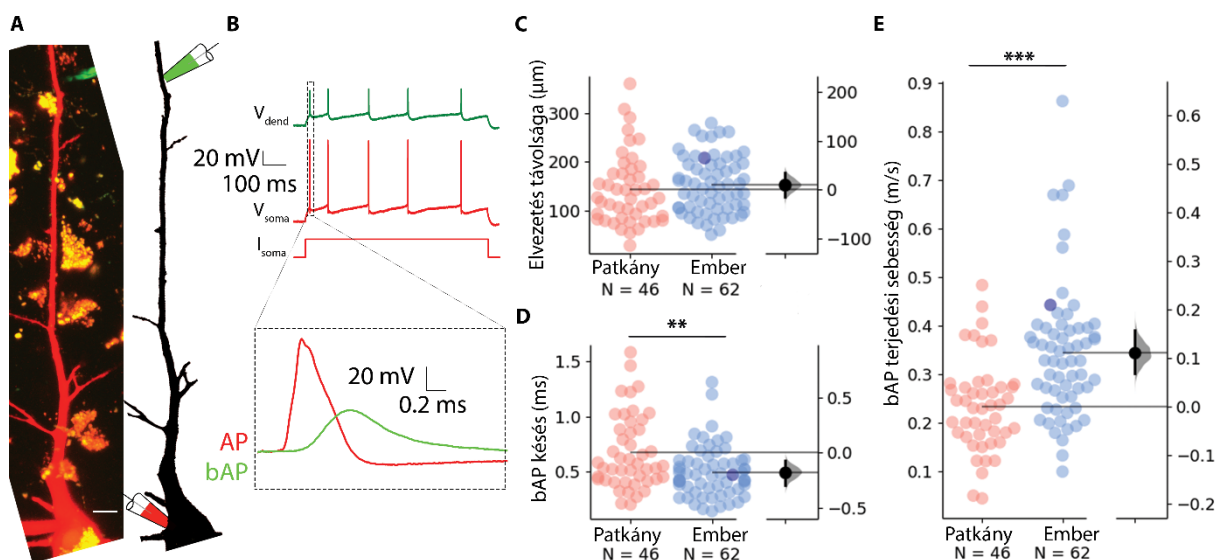
A: Reprezentatív 2 foton felvétel egy patkány piramisneuronról. **B:** Szimulált EPSPt kiváltó dendritikus áraminjekcióra mért membrán potenciál változások a szómán (piros) és a dendritben (zöld). **C:** Depolarizáló szomatikus négyszög áraminjekcióra adott membránpotenciál változások a dendritben (zöld) és a szómán (piros). A nagyított rész az első AP-t és annak dendritbe történő visszaterjedését (bAP) mutatja. **D:** A sEPSP csúcsánál mért késéskből számolt vezetési sebesség szignifikánsan magasabb volt emberben (kék), mint patkányban (piros). **E:** A sEPSP-k terjedési sebessége szignifikánsan alacsonyabb volt mint a bAP-k terjedési sebessége. **F:** Szignifikáns korreláció a bAP és sEPSP terjedése között. A regressziós vonal (fekete) körül az árnyékolt régió a 0-100% konfidencia intervallumát jelöli a bootstrappelt adatsornak. A paneleken a sötétebb adatpont az A és B paneleken bemutatott sejtet jelölik.

Mivel a dendritikus áraminjekció hatására méréseink jelentős részében a mérés minősége jelentősen romlott (nagy szivárgó áramokat mértünk az áraminjekció után), és szignifikáns korrelációt tapasztaltunk a dendritek különböző irányba történő vezetése között, a további farmakológiai kísérleteinket szomatikus áraminjekcióra adott AP-k dendritbe történő

visszaerjedésén végeztük. Ehhez elsőként alaposabban megvizsgáltuk, hogy a bAP-k terjedési sebességében tapasztalható-e bármilyen különbség a két fajban.

Visszaterjedő akciós potenciálok terjedési sebessége

Mind a patkány mind a humán mérések során a dendriteket hasonló távolságra szúrtuk meg a sejttesttől (patkány: $143,078 \pm 72,422 \mu\text{m}$, $n = 46$; vs. ember: $153,446 \pm 57,698 \mu\text{m}$, $n = 62$, Mann-Whitney teszt: $P = 0,175$). A bAP-k látenciáját a jelek csúcsánál mértük. Az emberi sejteknél szignifikánsan kisebb látencia értékeket tapasztaltunk, mint a patkány sejtek esetében (patkány: $0,672 \pm 0,334 \text{ ms}$, $n = 46$; vs. ember: $0,495 \pm 0,229 \text{ ms}$, $n = 62$, Mann-Whitney teszt: $P = 0,005$). E két paraméter hányadosa megadja nekünk az adott nyúlványszakasz vezetési sebességét. Ez patkányban $0,233 \pm 0,095 \text{ m/s}$ míg emberben szignifikánsan nagyobb, $0,344 \pm 0,139 \text{ m/s}$ sebesség értékeket mértünk (Mann-Whitney teszt: $P = 6,369 \times 10^{-6}$).



7. ábra: A bAP-k dendritikus elvezetése.

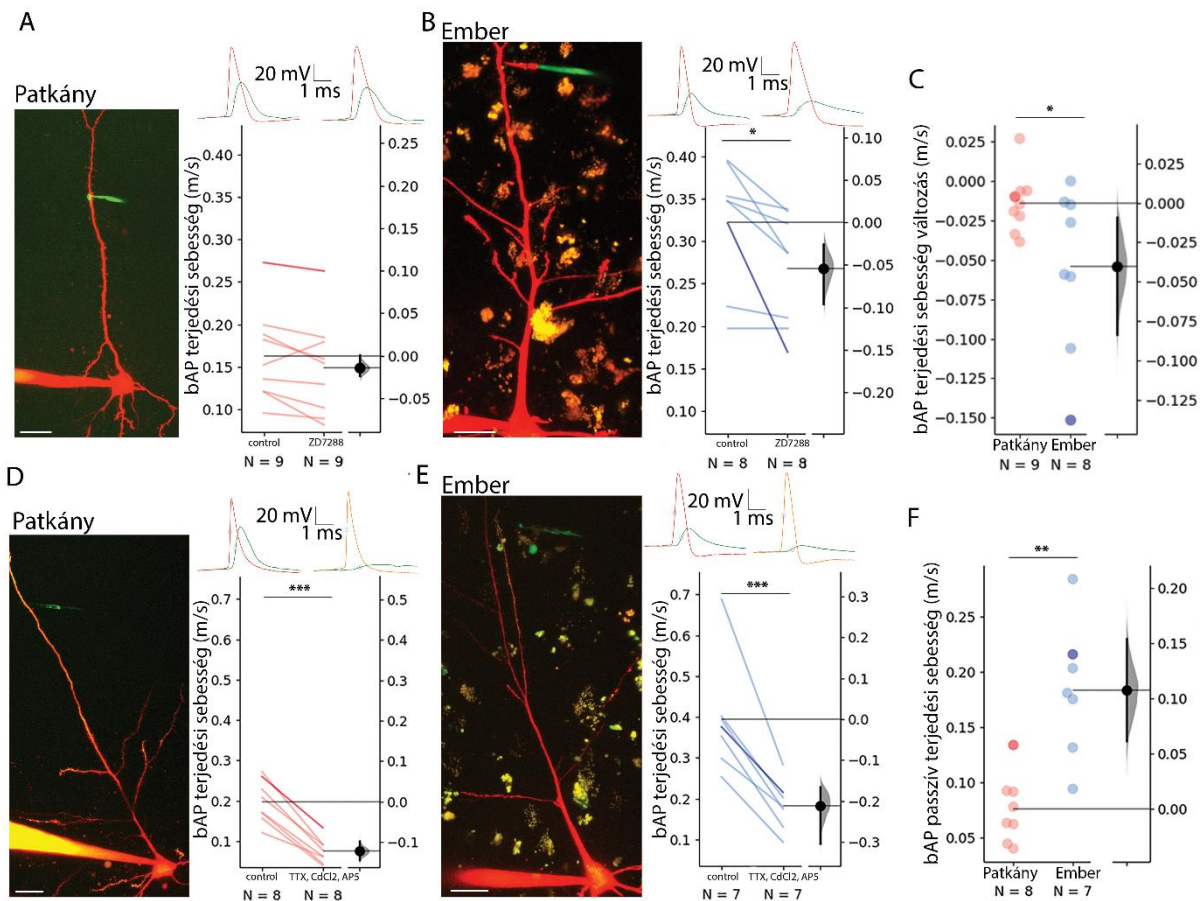
A: Egy reprezentatív emberi II/III. rétegi piramisneuron képe. Az elvezetési pontok somatikus pipettákkal jelölve a neuron digitális rekonstrukcióján (piros: somatikus elvezetés, zöld: dendritikus elvezetési pont). **B:** Somatikus áraminjekcióra (piros) mért membrán potenciál változások a somatikus (piros) és dendritikus (zöld) elvezetési pontokon. A nagyított rész az első kiváltott AP-t és annak dendritbe történő visszaterjedését mutatja. **C:** Az elvezetési pontok közötti távolság a dendritek mentén nem mutatott szignifikáns különbséget. **D:** A bAP-k csúcsánál mért késés a két elvezetési ponton szignifikánsan kisebb volt az ember (kék) dendritek esetén a patkányokhoz (piros) képest. **E:** A bAP-k terjedési sebessége szignifikánsan gyorsabb volt a humán dendritekben a patkány dendritekhez képest. A plotokon a sötétebb kék szín az A és B paneleken bemutatott példaneuron jeleit jelöli.

Méréseink alapján tehát elmondható, hogy az ember dendritjeiben mind a dendritek felől a szóma felé mind a sejttest felől a dendritek felé szignifikánsan gyorsabban terjednek az elektromos jelek. Az ortodromikus vezetés ~1,26-szor gyorsabb míg a bAP-k terjedési sebessége ~1,47-szer gyorsabb volt a humán dendritekben a patkányokhoz képest.

Az elektromos jelek terjedésében fontos szerepet játszanak a különböző feszültségfüggő ioncsatornák. Korábbi munkák már kimutatták hogy a HCN csatornák denzitásában számottevő különbségek tapasztalhatóak rágcsálók és ember között (Kalmbach et al., 2018). Kalmbach és munkatársai modellezési kísérleteik alapján azt jósolták, hogy a HCN csatornák konduktanciájának eliminálása megnöveli a szinaptikus jelek sejttestbe történő terjedésének késését. De vajon az általuk tapasztalt különbségek a két faj között magyarázzák-e a dendritikus vezetési sebességében általunk megfigyelt differenciát? E kérdés megválaszolására a HCN csatornák specifikus blokkolásával történő kísérleteket végeztünk. 10 perc kontroll szakasz felvétele után 20 μ M ZD7288 mostunk a sejtre és további 20-30 percig mértük a bAP-k terjedési sebességét. Kísérleteink alapján elmondható, hogy a HCN csatornák blokkolása a dendritikus vezetési sebesség enyhe csökkenéséhez vezetett mindkét fajban (patkány: kontroll: $0,163 \pm 0,054$ m/s, ZD7288: $0,149 \pm 0,057$ m/s, $n = 9$, páros mintás t teszt: $P = 0,062$) és e változás az emberi piramissejtek esetén statisztikailag szignifikánsnak bizonyult (kontroll: $0,322 \pm 0,073$ m/s, ZD7288: $0,268 \pm 0,066$ m/s, $n = 8$, páros mintás t teszt: $P = 0,022$). A humán sejteken tapasztalt jelentősebb változás a HCN csatornák konduktanciájának kikapcsolásának hatására egybevág Kalmbach és munkatársai eredményeivel, hiszen az ember neocorticális II/III. rétegi piramissejtjein több HCN csatornát találhatunk, mint a rágcsálókén, így ezek gátlása prominensebb hatást kell, hogy mutasson elektrofiziológiai elvezetésekben. Esetünkben az ember apikális dendritjeiben szignifikánsan nagyobb csökkenést találtunk a HCN csatornák blokkolását követően a patkányhoz képest (patkány: $-0,014 \pm 0,019$ m/s, ember: $-0,054 \pm 0,052$ m/s, két mintás t teszt: $P = 0,048$). Ennek ellenére kijelenthető, hogy a két faj között megfigyelhető különbség a HCN csatornák tulajdonságaiban önmagában nem elegendőek ahhoz, hogy az emberi sejtekre jellemző nagyobb vezetési sebességet kialakítsák, hiszen a csatorna blokkolását követően a humán sejtek még mindig gyorsabb vezetési sebességgel voltak jellemezhetőek.

Előfordulhat, hogy a HCN csatornákhöz hasonló különbségek más feszültség függő csatorna esetén is fennállnak a két faj között. A bAP-k terjedésében jelentős szerepet játszanak a feszültség függő Na^+ csatornák (G. J. Stuart & Sakmann, 1994). Felmerül a kérdés, vajon a

dendritikus regeneratív események kialakításában szerepet játszó feszültség függő csatornák közötti különbségek okozhatják-e az emberi sejtekre jellemző nagyobb vezetési sebességet? E kérdés megválaszolására további farmakológiai kísérleteket végeztünk. Szimultán szomato-dendritikus elvezetéseink során 10 perc kontroll szakasz felvételét követően 1 μ M TTX-et, 200 μ M CdCl₂-ot, és 20 μ M AP5-ot tartalmazó aCSF-et mostunk a szeleteinkre a feszültség függő Na, Ca, és NMDA csatornák blokkolása céljából. Ennek köszönhetően a dendriteket közel passzív állapotba hoztuk, tehát a bAP-k terjedését a dendritek kábel tulajdonságai határozták meg. Mind a patkány, mind az ember piramissejtjein a feszültség-függő csatornák blokkolása szignifikánsan csökkentette a dendritikus vezetési sebességet (patkány kontroll: $0,199 \pm 0,053$ m/s, patkány TTX/CdCl₂/AP5: $0,076 \pm 0,03$ m/s, páros mintás t teszt: $P = 2,099 \times 10^{-5}$, ember kontroll: $0,395 \pm 0,14$ m/s, ember TTX/CdCl₂/AP5: $0,184 \pm 0,061$ m/s, Wilcoxon teszt: $P = 0,016$, 8. ábra D,E).



8. ábra: Farmakológiai vizsgálatok patkány és ember dendriteken.

A: HCN csatornák blokkolásának hatása patkány II/III. rétegi piramissejteken. Balra: reprezentatív 2 foton kép egy patkány piramissejtről. Jobbra: bAP terjedési sebesség változása ZD7288 bemosását követően. A sötétebb szín a reprezentatív sejtet jelöli. **B:** Hasonló, mint A csak emberi piramissejten. **C:** A HCN csatornák blokkolását követően a bAP-

k terjedési sebessége emberi mintákban szignifikánsan csökkent a patkány mintákhoz képest. D-E: Hasonló, mint A-B csak TTX, CdCl₂ és AP5 hatásának vizsgálata. F: Az aktív konduktanciák blokkolása után a dendritek passzív vezetési sebessége szignifikánsan magasabb maradt, mint a patkány dendritek esetében mért sebesség.

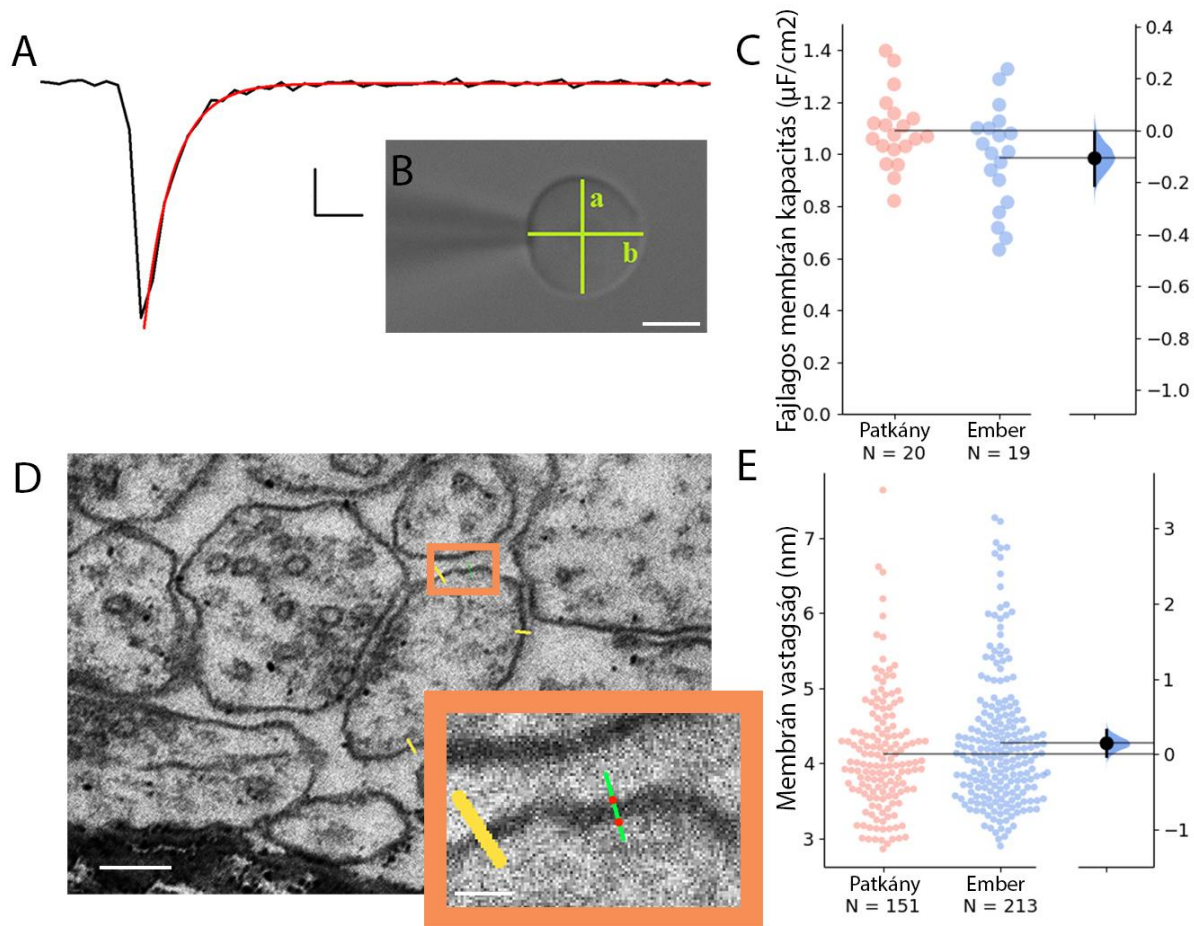
E farmakológiai módszerrel „passzív” állapotba hozott dendriteken továbbra is megfigyelhető volt, hogy a humán sejtek nyúlványain a jelek szignifikánsan gyorsabban futnak végig a patkány sejtek nyúlványaihoz képest (patkány: $0,076 \pm 0,03$ m/s, $n = 8$, ember: $0,184 \pm 0,061$ m/s, $n = 8$, Mann-Whitney teszt: $P = 0.001$, 8. ábra F).

Mindezt összevetve arra a következtetésre jutottunk, hogy a két faj közötti különbséget a passzív paraméterek további vizsgálatával tudjuk jobban megérteni.

Ember és patkány piramissejtek specifikus membrán kapacitása

A páros elvezetéseink és szimultán szomato-dendritikus méréseink alapján tehát arra következtethetünk, hogy az ember piramissejtjein az ingerület gyorsabban futhat végig, és a két faj közötti különbség nem a feszültség-függő ioncsatornák fajonkénti jellegzetes tulajdonságaiból adódnak. Ha a sejtek nyúlványait passzív kábeleként képzeljük el, akkor alapvetően két paraméter befolyásolhatja az elektromos jelek terjedésének sebességét. A sejtmembrán kapacitása, illetve a nyúlvány axiális ellenállása.

Mivel a szakirodalomban ellentmondásos eredmények találhatók az emberi és rágcsáló sejtek specifikus membrán kapacitását tekintve (Beaulieu-Laroche et al., 2018a; Eyal et al., 2016) szükségesnek éreztük saját mérések elvégzését. *Nucleated patch*-eket húztunk II/III. rétegi piramissejtekből, majd ezen membránok felületét és kapacitás értékét felhasználva kiszámoltuk a sejtekre jellemző fajlagos membrán kapacitást (C_m , 9. Ábra, A,B) (Gentet et al., 2000).



9. ábra: Patkány és ember neuronjainak fajlagos membrán kapacitása és membrán vastagsága.

A: reprezentatív kapacitív tranziens mely 5 mV-os feszültséglépcsőre alakult ki egy nucleated patch-en. A mérési adatokra (fekete vonal) exponenciális függvény lett illesztve, melynek időállandójából számoltuk a mért membrán darab kapacitását. Kalibráció: 100 pA, 20 μ s. **B:** Kihúzott sejtmag DIC képe. A nucleated patch felülete a két átlóból lett kiszámítva (a, b lásd: anyagok és módszerek). Kalibráció: 5 μ m. **C:** Fajlagos membrán kapacitás értékek patkány (piros) és ember (kék) sejtekből mérve. Nem találtunk statisztikailag szignifikáns eltérést a két fajban. **D:** Reprezentatív elektronmikroszkópos felvétel emberi agyszövetről. A kép közepén egy szinapszis látható. A poszt-szinaptikus sejt membránja a sárga vonalakkal jelölt részekén lett mérve (kalibráció: 40 nm). A narancssárga keret kinagyítva a jobb oldalon mutatja hogy a ROI vonal mentén az algoritmus hol határozta meg a membrán vastagságát (piros pontok, kalibráció: 10 nm). **E:** Membrán vastagság mérések összesített eredménye. Nem találtunk szignifikáns különbséget a patkány (piros) és ember (kék) neuronjainak membrán vastagságában.

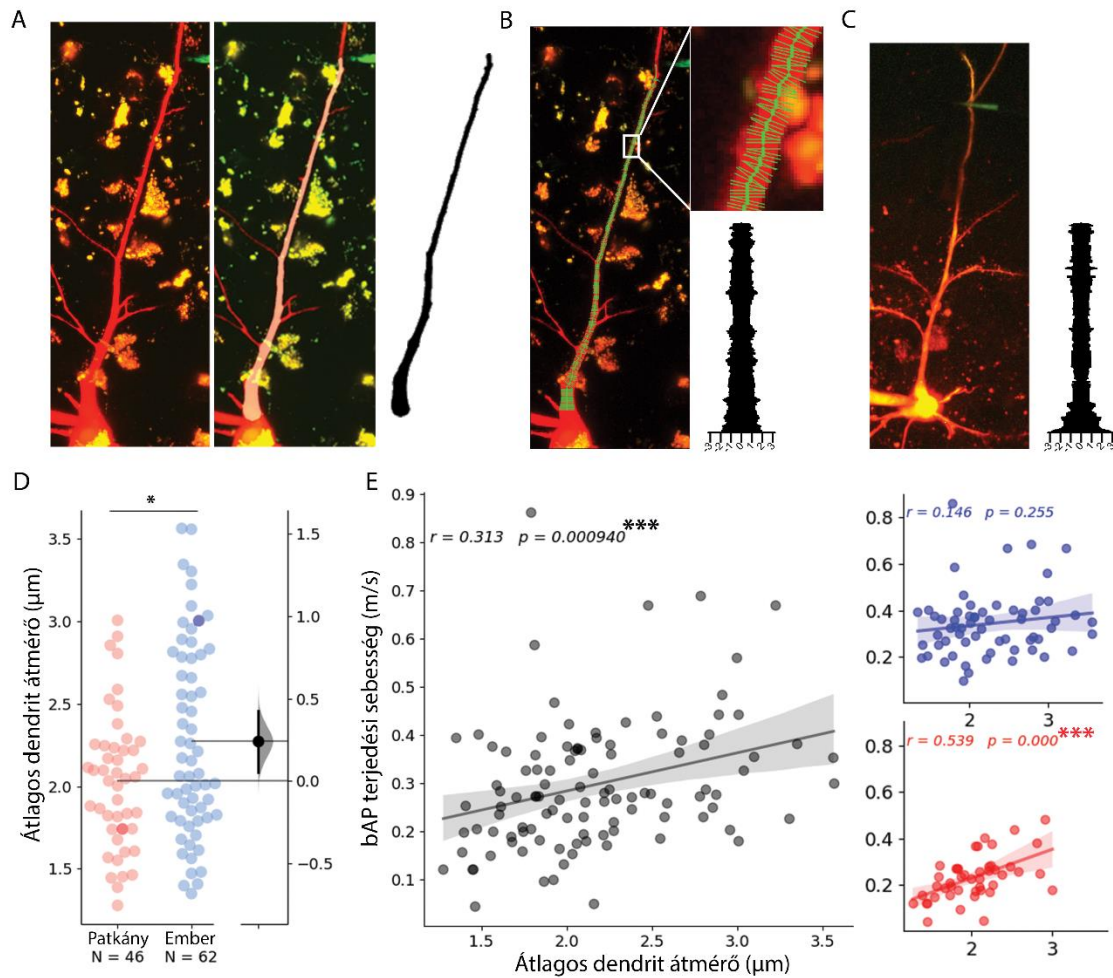
A C_m értékben nem találtunk különbséget a két fajban (9. Ábra C, patkány: $n = 20$, $1,092 \pm 0,14 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, ember: $n = 19$, $0,987 \pm 0,196 \mu\text{F}/\text{cm}^2$, két mintás t teszt: $P = 0,0615$). A fajlagos membrán kapacitást a membrán dielektromos állandója, és a két töltéssel rendelkező térrészt elválasztó szigetelő vastagsága, következésképpen a membrán vastagsága határozza meg. A

sejt membránjának vastagságát kísérletes úton mérni lehet. Az elektrofiziológiai fajlagos membránkapacitás méréseink megerősítése céljából transzmissziós elektronmikroszkópos felvételeken megvizsgáltuk, hogy tapasztalható-e különbség a sejtmembrán vastagságában a két fajban. Ha a sejtmembrán vastagabb, az a kapacitásának csökkenését okozza, mivel az ionok által létrehozott elektromágneses kölcsönhatás a membrán túlsó oldalán jelentősen lecsökken. Elektronmikroszkópos felvételeinken olyan struktúrák membránjának vastagságát mértük le, melyek egyértelműen beköthetőek voltak egy dendrithez. A sejtmembrán vastagságában nem találtunk különbséget a két fajban (patkány: $n = 3$, ROI $n = 151$, $4,122 \pm 0,779$ nm, ember: $n = 3$, ROI $n = 213$, $4,271 \pm 0,873$ nm, Mann-Whitney teszt: $P = 0,212$). Elektrofiziológiai eredményeinket tehát egy független módszerrel is alátámasztottuk.

Ez alapján kijelenthető, hogy a különböző fajokból származó sejtek ingerületvezetési sebességében tapasztalt különbség oka nem a fajlagos membránkapacitásban keresendő.

A dendritek vastagsága

Egy nyúlvány vezetési sebessége függhet az axiális rezisztenciájától. Az axiális rezisztenciát két paraméter képes befolyásolni: a nyúlvány citoplazmájának összetétele, illetve a nyúlvány vastagsága. Mivel méréseink során a szomatikus elektródán keresztül dializáltuk a sejteket, így juttatva az intracelluláris térbe a fluoreszcens jelölő anyagot, ezért a citoplazma összetételének esetleges különbségeit így jelentősen csökkentettük. Ennek következtében azt feltételeztük, hogy a dendritszakaszok axiális ellenállását túlnyomó részben a nyúlványok vastagsága határozta meg a méréseink során. A mért dendritszakaszokról Z irányú sorozatképet készítettünk 2 foton mikroszkóppal. Az így kapott képeken rekonstruáltuk a mért nyúlványokat, melyeknek vastagságát lemértük. A sejttest és a dendriten történt elvezetési pontok közötti átlagos dendritikus vastagságot minden mért sejtre meghatároztuk. Az általunk mért ember mintákban a dendritikus vastagság (a nyúlvány átlagos átmérője) szignifikánsan nagyobb volt, mint a patkány minták esetében (ember: $n = 62$, $2,272 \pm 0,584$ μm ; patkány: $n = 46$, $2,032 \pm 0,413$ μm , két mintás t teszt: $P = 0,019$, 10. ábra D). Mind a patkány, mind a humán sejteknél pozitív korrelációt tapasztaltunk az elvezetett nyúlványok vastagsága és vezetési sebesség között (10. ábra E).



10. ábra: A mért dendritek vastagságának meghatározása.

A: Egy II/III. rétegi emberi piramisisejt 2 foton képe, és a két elvezetési pont közötti dendritszakasz digitális rekonstrukciója (középső képen halvány fehérrel a jobb oldali képen feketével). **B:** A dendrit vastagságának 1 μ m-es szakaszonkénti meghatározása. A kinagyított kép a dendritet és annak mért átmérőjét (zöld) mutatja. A fekete vonalak számától (lent) a dendritikus elvezetési pontig (fent) mért dendritikus átmérő értékeket mutatják. **C:** Ugyanaz mint B, csak egy patkány példa sejten. **D:** Az emberi piramisisejtek dendritjeinek átlagos átmérője (kék) szignifikánsan nagyobb volt a patkány dendritekéihez képest (piros). **E:** Szignifikáns korreláció a dendritikus vastagság és az átlagos dendrit átmérő között. A regressziós vonal körül az árnyékolt terület a 0-100%-os konfidencia intervallumot jelöli a bootstrappelt adatra. A Pearson korrelációs koefficiens (r) és a p érték a bal felső sarokban. Szürke: összes mérés. Kék: humán mérések. Piros: patkány mérések.

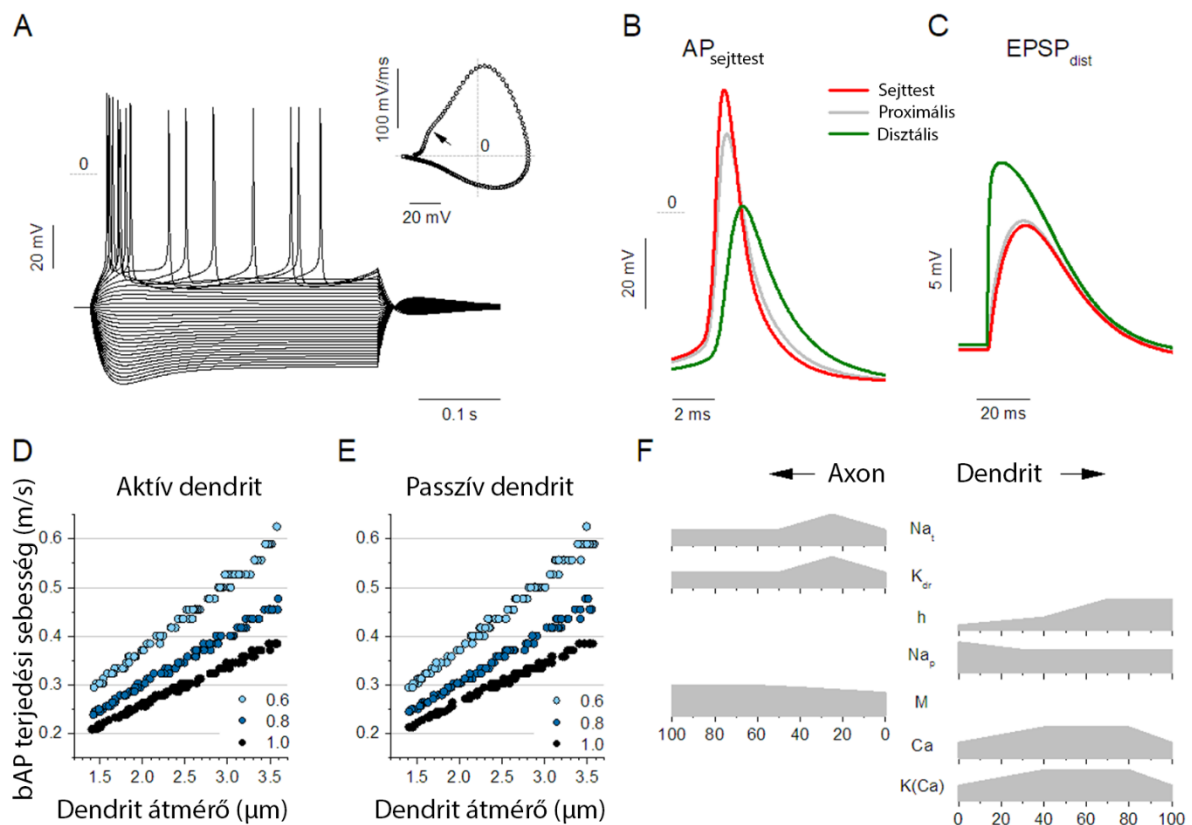
Mindezek alapján elmondható, hogy az ember agykérgének piramisisejtjeinek dendritjein gyorsabban képes az ingerület végigfutni, és ennek háttérében az az egyszerű biofizikai tulajdonság állhat, hogy a neuronok nyúlványai vastagabbak és ennek köszönhetően az axiális ellenállásuk kisebb, illetve hozzájárulhat továbbá a HCN csatornák magasabb expressziója a dendritben. A dendritvastagság és a vezetési sebesség közötti ok-okozati

kapcsolat feltárása kísérletes módszerekkel nehezen vizsgálható, hiszen ehhez olyan intervenciót kellene alkalmazni a mérések során, melyek hatására a dendritikus átmérő megváltozik, de a sejt alapvető fiziológiai paramétereire nincs hatással. Mivel ez technikailag szinte kivitelezhetetlen, a modellezés adta lehetőségek kihasználásával próbáltuk a feltételezett ok-okozati viszonyt feltárni.

A dendrit vastagságának hatása a vezetési sebességre modellben

A dendritek vastagságának vezetési sebességre gyakorolt hatásának vizsgálata céljából egy viszonylag egyszerű modellt építettünk, melyben a sejttestet egy izoelektromos gömbbel, a dendritet és az axont pedig egy-egy hosszanti irányban állandó átmérőjű hengerrel helyettesítettük. Az axonban és a dendritben különböző feszültségfüggő csatornákat helyeztünk el, melyek eloszlását a modell számos fiziológiai jellemzőjét reprodukálta egy agykérgi neuronnak.

A modellben megvizsgáltuk, miként működnek a dendritek passzív állapotban, illetve ha aktív konduktanciákkal rendelkeznek. A szimuláció közben a különböző paramétereket fixen tartottuk, csupán a nyúlványok vastagságát változtattuk, és mértük a visszaterjedő AP-k csúcánál mérhető késést a sejttesthez képest, majd kiszámoltuk a terjedési sebességet.



11. ábra: Az agykérgi piramissejt három kompartmentumos biofizikai modellje.

A: A modell feszültségválasza szomatikus áraminjekció esetén, -200 és $+110$ pA közötti, 10 pA-val inkrementált négyesög jelekre. A sag potenciált és az utódepolarizációt a h -áram okozza. Az AP akkomodáció is megfigyelhető. Jobbra: a reobázis feletti első akciós potenciál fázisplotja. A nyíl jelzi a fázisplot jellegzetes két fázisú profilját, amelyet az axonális és a szomatikus Na-áramok enyhe időbeli eltérése okoz. **B:** A szimulált szomatikus áraminjekciója kiváltott AP, amelynek amplitúdója a sejttesten a legnagyobb (piros nyomvonal), a disztális dendritikus régióban pedig közel a felére esik (zöld). **C:** A szimulált gerjesztő posztzinaptikus áram hatása látható a disztális, proximális és szomatikus kompartmentekre. Itt az EPSP amplitúdója a disztális régióban a legmagasabb. **D:** A vissza terjedő AP-k sebessége a hengeres dendrit átmérőjének függvényében ábrázolva. Az axiális membránellenállás három különböző értékére ($0,6$, $0,8$ és $1,0$ MOhm \times mm) volt állítva. Itt a dendritikus régió feszültség-aktivált konduktanciákat is tartalmazott. **E:** Ugyanaz, mint D, csak a dendritből eltávolított összes feszültségfüggő konduktanciával. **F:** A felületi konduktancia sűrűségprofilok 7 feszültségfüggő membránáramra láthatók (0 és 100 a nyúlványok kezdő-, illetve végpontját jelölik).

E viszonylag egyszerű modell alkalmasnak bizonyult arra, hogy a dendritikus vastagság és a vezetési sebesség között fennálló ok-okozati viszonyt feltárjuk. Eredményeink alapján elmondható, hogy a dendritikus átmérő változtatásával arányosan nőtt a vezetési sebesség mind a passzív, mind az aktív dendritekben (11. ábra D,E).

Diszkusszió

Az idegrendszer evolúciója régóta foglalkoztatja a kutatókat. A fénymikroszkópos technikák megjelenésével lehetőségünk nyílt egyedi sejtek morfológiai vizsgálatára. A különböző fajokból készült preparátumok sejt alaktani megfigyelései már viszonylag korán rávilágítottak arra, hogy jelentős méretbeli különbségek vannak a törzsfa különböző ágain található élőlények neuronjai között (Defelipe, 2011). A celluláris elektrofiziológia elterjedésével a neuronok közötti kommunikáció temporális tulajdonságainak vizsgálatára is lehetőség nyílt. Habár a nagyobb kiterjedésű dendritikus arborizáció lehetőséget teremt arra, hogy egy sejtre több szinaptikus bemenet is érkezzon, aminek következtében a számítási kapacitása megnövekedhet, magában hordozza annak veszélyét, hogy a disztális nyúlványok jelei megnövekedett késéssel érkeznek a sejtestbe. Ez természetesen a szóma felől a disztális dendritek felé történő AP visszaterjedésben is problémát okozhat. Ha a sejtek nem kompenzálják ki a nagyobb arborizációból következő hosszabb késést, akkor a disztális dendritek szinapszisainak STDP szerű potencirozódása zavart szenvedne. Kutatócsoportunk korábbi eredményei alapján megállapítható, hogy a rágcsáló és ember neuronhálózataiban az információ terjedése az egyes elemek között hasonló időbeli tulajdonságokkal rendelkezik, annak ellenére hogy az ember idegsejtjei lényegesen nagyobbak (Molnár et al., 2016). Ez alapján feltételeztük, hogy az ember neuronjaiban az ingerület terjedésének sebessége nagyobb lehet, mint rágcsálóban. Az elektromos jelek humán dendritekben és axonokban történő terjedésének sebességére eddig csak modellekből jósolt értékek álltak rendelkezésünkre (Eyal et al., 2016; Kalmbach et al., 2018). Kísérleteink e tekintetben hiánypótlónak tekinthetők. Meghatároztuk az emberi agykéreg II/III-ik rétegi piramissejtjeinek axonjaiban és dendritjeiben az elektromos jelek terjedési sebességét, és körbejártuk az ember és a patkány között megfigyelhető különbség hátterében álló mechanizmusokat.

Az ember II/III-ik rétegi piramissejtjeinek axonjain hasonló vezetési sebességet mértünk. Technikailag az axonokból direkt elektrofiziológiai mérések kivitelezése meglehetősen bonyolult feladat. E nyúlványok vékonyak, mitöbb mielinnel burkoltak, mely szintén hozzájárul ahhoz, hogy a mérő elektródával nehezen lehet a membránt direkt megközelíteni. Egy lehetséges alternatíva az axonhólyagok elektrofiziológiai mérése. Az axonhólyag az agyszelet preparálása során megjelenő struktúra, mely a szelet felszínén helyezkedik el és az elvágott axon membránjának spontán visszazáródása hozza létre. Az axon hólyagot viszonylag könnyen meg lehet közelíteni elektródával, és direkt whole-cell elvezetést lehet végezni róla. Azt mindenesetre érdemes megjegyezni, hogy az adatsorunkban a szómától

legtávolabbi axonhólyag, amit mérni tudtunk, ~550 μm -re volt. Az, hogy nem találtunk szignifikáns különbséget az axononok vezetési sebességében a két fajban, nem jelenti azt, hogy a teljes axont figyelembe véve ne lehetne jelentős különbség az ember és rágcsálók axonjaiban az ingerület terjedésének sebességében. A hosszú távú kapcsolatok kialakításában résztvevő nyúlványok vizsgálata agyszelet preparátumokban szinte lehetetlen. A különböző sejtek axonjai akár a másik agyféltekére is közvetíthetnek információt, mely pusztán a két faj agyának méretbéli különbségei miatt is jelentősen messzebbre kell eljutniuk. Ha feltételezzük, hogy az axonokban az ingerület 0,8 m/s sebességgel fut végig, és egy rágcsálóban a két félteke között 2 cm távolságot kell áthidalnia az axonnak, míg az emberben ez 15 cm, akkor kiszámolható, hogy a rágcsálóban ~25 ms szükséges ahhoz hogy egy sejt az egyik féltekéről átküldje az információt a másik féltekére, míg emberben erre ~188 ms-ra lenne szükség. Ez alapján elképzelhető, hogy a humán sejtek disztális axonjaiban lehet valami kompenzációs mechanizmus e méretből adódó késés kiküszöbölésére, ám ennek vizsgálata az általunk használt szelet fiziológiával nem oldható meg.

Méréseink során az emberi dendritekben jelentősen magasabb vezetési sebességet találtunk. Farmakológiai kísérleteink igazolták korábbi modellezési eredmények predikcióját, nevezetesen, hogy az emberi dendritek magasabb HCN csatorna expressziója hozzájárulhat a nyúlványok gyorsabb vezetési sebességéhez (Kalmbach et al., 2018). A HCN csatornák expressziójának csökkenését már megfigyelték Alzheimer-betegségben szenvedő embereknél (Saito et al., 2012), illetve e csatornák kiütése kísérleti állatokban nagyobb fogékonyságot okozott epilepsziás rohamokra (Huang et al., 2009). Vajon az általunk megfigyelt csatorna blokkolásra megjelenő dendritikus vezetési sebesség-csökkenés az emberi mintákban mennyiben járulhat hozzá ezen patológiás folyamatok megnyilvánulásához? Előfordulhat, hogy patológiás (pl. Alzheimer-betegség) esetén az AP-k lassabb visszaterjedése a dendritikus régiókba hozzájárulhat a szinapszisok megerősödésének elmaradásához és esetlegesen hozzájárulhat a memória zavarok kialakulásához.

A dendritikus vezetési sebességre hasonló hatással volt az aktív konduktanciák gátlása a két fajban. A feszültség függő Na és Ca, illetve az NMDA receptorok blokkolását követően az így „passzívvá” vált dendritek között is megfigyelhető maradt az emberre jellemző gyorsabb vezetési sebesség. Ez arra enged következtetni, hogy dendritek a passzív kábel-tulajdonságaiban keresendő a két faj között megfigyelt vezetési sebesség-különbség. A passzív tulajdonságok közül elsőként a sejtek fajlagos membránkapacitását vizsgáltuk, hiszen a szakirodalomban már találtunk a neuronok nyúlványaiban történő szignálpropagációra

gyakorolt hatására utaló munkát (Eyal et al., 2016). Eyal és munkatársai *nucleated patch* elvezetésekkel és modellezéssel arra a következtetésre jutottak, hogy az ember agykérgi II/III. rétegi piramissejtjeinek fajlagos membránkapacitása nagyjából fele a rágcsálókban mérhető értéknek. Ennek következtében az elektromos jelek gyorsabban terjedhetnek a humán nyúlványokon. E főként modellezésen alapuló munkában említést tesznek arról, hogy a membránok vastagságában nem találtak különbséget a két faj között, bár ezen megjegyzésüket nem támasztják alá számszerűsített eredményekkel. E munkát éppen ezért fenntartásokkal érdemes kezelni, nem beszélve arról, hogy a későbbi munkák, melyek hasonló módon vizsgálták a sejtek fajlagos membránkapacitását, nem mutattak ki hasonló különbségeket sem V. rétegi (Beaulieu-Laroche et al., 2018a) sem II/II. rétegi piramissejteknel (Gooch et al., 2022). Saját méréseink szintén azt mutatják, hogy nincs különbség a fajlagos membránkapacitásban a két faj között, mitöbb, egy független módszerrel, a membránok vastagságának elektronmikroszkópos mérésével is alátámasztottuk elektrofiziológiai méréseinket. Ez alapján kijelenthető, hogy a passzív paraméterek közül a nem a membrán fajlagos kapacitásának eltérése okozza a két fajban tapasztalható vezetési sebesség-különbséget. A dendritek vezetési sebességére még hatással lehet az axiális ellenállás. Mivel ez a dendritek vastagságától is függ, megvizsgáltuk, hogy e paraméter korrelál-e a vezetési sebességgel. Méréseink alapján elmondható, hogy a dendritek átlagos átmérője és a bennük mért vezetési sebesség között szignifikáns pozitív korrelációt lehet tapasztalni. E korreláción túl modellezési kísérletekkel igazoltuk az ok-okozati viszonyt a két paraméter között. Az emberi agykéreg sejtjei tehát méretükből adódó szinaptikus késések növekedését úgy kompenzálhatják, hogy dendritjeik vastagabbak, következésképp axiális ellenállásuk kisebb és így a jelek gyorsabban futhatnak bennük végig. Természetesen egy nyúlvány vastagságának növelése is hordoz magában olyan problémákat, amik miatt ez csak egy bizonyos tartományban lehet kifizetődő a sejteknek. Ha egy dendrit vastagsága túl nagy, akkor előfordulhat, hogy a membránjának megnövekedett felülete, illetve az intracelluláris tér nagyobb térfogata miatt a sejt totális kapacitása nagy mértékben megnő, ezért a sejten azonos membrán ellenállás mellett sokkal nagyobb áramok szükségesek ahhoz, hogy azonos membránpotenciál változásokat alakítsanak ki. Annak tisztázására, hogy mely mérettartományban lehet kifizetődő a sejteknek a nyúlványaik vastagságának növekedése jövőbeli modellezéses munkák adhatnak választ.

Az ember agykérgében megfigyelhetőek a rágcsáló kísérletekből már ismert oszcillációk. Az, hogy a mikrohálózatokban ezen jelenségek hasonló temporális dinamikával jelen lehessenek szükségszerű, hogy a hálózat elemei között a kommunikáció sebessége

magasabb legyen, hiszen a mikrohálózatokat felépítő sejtek mérete jelentősen nagyobb. Kutatócsoportunk korábbi munkájában már beszámolt arról, hogy az interneuronokra érkező serkentő bemenetek szinaptikus latenciái nem különböznek rágcsáló és ember sejtpárok mérése során (Molnár et al., 2016). Jelen munkánkban a serkentő sejtek közötti kommunikáció tulajdonságait vizsgáltuk és hasonló eredményre jutottunk, mint az intraneuronokra érkező serkentő szinapszisok tanulmányozása során. Azonosítottuk, hogy a két faj közötti különbség háttérben a dendritikus tulajdonságok törzsfejlődés során történt változása állhat, mely így fajunkat képessé teheti arra, hogy a külvilág ingereit hasonló sebességgel dolgozza fel, ám nagyobb méretű sejtekkel, melyek több szinaptikus kapcsolat kialakítására is alkalmasak, így megnövelve már sejt szinten a számítási komplexitását agyunknak.

Összefoglalás

A neurobiológiában már régóta ismert tény, hogy a különböző állatok agyát különböző méretű sejtek építik fel. Az elmúlt évtizedekben a fiziológiai módszerek fejlődésének köszönhetően lehetőségünk nyílt a különböző állatfajok agyi aktivitásának mérésére. Már a korai EEG elvezetések is azt mutatták, hogy az agykéregben mind a kiváltott válaszok, mind a spontán oszcillációk hasonló konzervált temporális dinamikákat mutatnak. Ezért már régóta felmerült a kérdés, vajon az ingerület terjedése gyorsabb azokban a fajokban, amelyekben nagyobbak a sejtek?

Kísérleteinkhez a széleskörben elterjedt rágcsáló modellt (patkányt) és műtéti úton eltávolított emberi agyszövetet választottunk annak megválaszolására, hogy vajon az emberi agykéreg II/III. rétegi piramissejtjei által létrehozott mikrohálozatokban valóban gyorsabb-e az információ áramlása?

Páros elvezetésekkel bemutattunk, hogy az emberi agykéreg piramissejtjei közötti monoszintinikus kommunikáció hasonló szinaptikus késésekkel jellemezhető, mint a patkány sejtjei közötti, ám emberben az interszomatikus távolság, melyen a jelnek végig kellett futnia átlagosan 1,47-szer hosszabb volt. Ebből az következik, hogy az emberi agykéreg sejtjein az ingerületnek gyorsabban kell végigfutnia. Ezt követően axonális és dendritikus elvezetéseket végeztünk annak vizsgálatára, hogy mely nyúlványtípus játszhat szerepet e jelenségben. Legjobb tudomásunk szerint elsőként vezettünk el emberi axonokról elektromos jeleket, így elsőként határoztuk meg a lokális kapcsolatok távolság tartományába eső axonok vezetési sebességét. Méréseink során nem találtunk szignifikáns különbséget a patkány és ember axonális vezetési sebessége között, így arra a következtetésre jutottunk, hogy a páros elvezetések során tapasztalt különbségek háttérben a dendritikus tulajdonságok különbségei állhatnak. Dendritikus elvezetéseinkkel meghatároztuk a dendrit felől a sejttest felé, illetve a szóma felől a dendritbe történő elektromos jelek terjedésének sebességét, és mindkét irányba az emberi sejtek gyorsabban vezettek. Mivel a két vezetési irányban mért sebességek között szignifikáns korrelációt tapasztaltunk, a további farmakológiai kísérleteinket a visszaterjedő akciós potenciálok terjedésének vizsgálatával végeztük, mivel e jelek kiváltása és mérése technikailag egyszerűbb. Farmakológiai vizsgálataink alapján kijelenthető, hogy az ember agykérgi piramissejtjein tapasztalható magasabb HCN csatorna expresszió hozzájárulhat a gyorsabb vezetési sebességhez, ám önmagában nem elégséges, hogy magyarázza a két faj közötti különbséget. A dendritikus feszültség függő csatornák blokkolása után a passzívra tett dendriteknél is megfigyelhető volt, hogy a humán dendriteken szignifikánsan gyorsabban

futnak végig az elektromos jelek. Ezért arra a következtetésre jutottunk, hogy a nyúlványok passzív kábel tulajdonságait meghatározó paraméterekben is lehet különbség a két fajban. Elsőként a sejtek fajlagos membránkapacitását vizsgáltuk és nem találtunk szignifikáns különbséget a két faj között. Ezt egy független módszerrel, a membrán vastagságának elektronmikroszkópos vizsgálatával is megerősítettük, hiszen méréseink szerint nincs szignifikáns különbség a két faj membránjának vastagságában. Az axiális ellenállást nagy mértékben befolyásoló nyúlványvastagságban azonban szignifikáns különbséget találtunk, az emberi agykéreg sejteinek nyúlványai vastagabbak voltak, mint a rágcsálóban, mitöbb szignifikáns pozitív korrelációt tapasztaltunk a dendritek átlagos átmérője és vezetési sebességük között. Ez utóbbi megfigyelésünk ok-okozati viszonyait feltárandó modellezési kísérleteket végeztünk, melyek során bemutattuk, hogy önmagában a sejt nyúlvány vastagságának növelésével, a modellben szereplő többi paraméter fixen tartása mellett a vezetési sebesség is növekedett.

Mindezt összefoglalva a munkánk során bemutattuk, hogy az emberi agykéreg II/III. rétegi piramissejtjeiből felépülő rekurrens serkentő hálózatban az információ terjedésének sebessége magasabb, mint rágcsálóban, és ennek hátterében a dendritikus tulajdonságok közül szerepet játszik a magasabb HCN csatorna expresszió, illetve az emberi neuronokra jellemző nagyobb dendritikus átmérő. E folyamatok állhatnak tehát annak hátterében, hogy a külvilág ingereit hasonló sebességgel tudjuk feldolgozni, mint a minket körülvevő más fajok, annak ellenére, hogy az agyunkat felépítő sejtek jelentősen nagyobbak, minek következtében több kapcsolatot képesek kialakítani és bonyolultabb számításokat is véghez vihetnek.

Summary

It has long been known in neurobiology that the brains of different animals are made up of cells of different sizes. In recent decades, advances in physiological methods have made it possible to measure brain activity in different animal species. Even early EEG recordings showed that both evoked responses and spontaneous oscillations in the cerebral cortex exhibit similar conserved temporal dynamics. Therefore, the question has long been raised: is the propagation of excitation faster in species with larger cells?

For our experiments, we chose a widely used rodent model (rat) and surgically removed human brain tissue to answer the question: is the flow of information faster in the microcircuits built up by layer II/III pyramidal cells in the human cortex?

Using paired somatic recordings, we show that monosynaptic communication between human cortical pyramidal cells can be signalled with similar synaptic delays as between rat cells, but in humans, the inter-somatic distance the signal had to travel was on average 1.47 times longer. This implies that the stimulus has to travel faster through the cells of the human cortex. We then performed axonal and dendritic recordings simultaneously with somatic measurements to investigate which type of neural process might play a role in this phenomenon. To the best of our knowledge, we were the first to record electric signals from human axons with patch clamp technique, and thus the first to determine the conduction velocity of axons in the range of the distance of local connections. We found no significant difference in axonal conduction velocity between rats and humans, and conclude that differences in dendritic properties may underlie the differences we observed in the paired recordings. We determined the speed of propagation of electrical signals from the dendrite to the cell body and from the soma to the dendrite, and human cells conducted faster in both directions. Since we found a significant correlation between the velocities measured in the two conduction directions, we performed our further pharmacological experiments by investigating the backpropagation of action potentials since the elicitation and measurement of these signals are technically simpler. Our pharmacological studies suggest that higher HCN channel expression in human cortical pyramidal cells may contribute to the faster conduction velocity, but is not sufficient in itself to explain the difference between the two species. After blocking the dendritic voltage-dependent channels in passive dendrites, it was also observed that electrical signals travel significantly faster through human dendrites. Therefore, we conclude that there may be differences in the parameters determining the passive cable properties of the dendrites in the two species. First, we examined the specific membrane capacitance of the cells and found no significant difference

between the two species. This was confirmed by an independent method, an electron microscopic examination of the membrane thickness. As our measurements showed no significant difference in membrane thickness between the two species. However, we did find a significant difference in the thickness of the dendrite which is the key determinant of axial resistance, with human cortical cells having thicker dendrites than those of rodents. What is more, we found a significant positive correlation between the average diameter of the dendrites and their conduction velocity. To explore the causality of this latter observation, we conducted modelling experiments to show that increasing dendritic thickness alone, while holding other parameters in the model fixed, also increased conduction velocity.

To summarize, we have shown that the speed of information propagation in the recurrent excitatory network of human cortical layer II/III pyramidal cells is higher than in the rat and that this is due to dendritic properties such as higher HCN channel expression and larger dendritic diameter, which is typical for human neurons. These processes may therefore underlie our ability to process stimuli from the outside world at a similar speed to other species around us, even though the cells that make up our brains are significantly larger, which allows them to make more connections and perform more complex computations.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Prof. Tamás Gábornak amiért lehetőséget biztosított munkám végzéséhez kutatócsoportjában, Dr. Molnár Gábornak, hogy bármikor fordulhattam hozzá kérdéseimmel. Köszönöm továbbá az Agykérgi Neuronhálózatok kutatócsoport minden tagjának és az Élettani, Szervezettani és Idegtudományi Tanszék munkatársainak a baráti légkört, ami körülvett munkám során. Külön köszönettel tartozom Mezei Leonának, Tóth Évának, Dr. Kocsis Katalinnak és Lehóczki Bettinának az anatómiai munkájukért, illetve Dr. Szűcs Attilának a modell megalkotásáért, továbbá Prof. Barzó Pálnak amiért biztosította számunkra a szövetmintákat. Szintén külön szeretném megemlíteni Lákovics Rajmund hozzájárulását a munkához. Nélküle az elektrofiziológiai adatgyűjtés sokkal nehezebben ment volna! Köszönetet szeretnék mondani továbbá Dr. Baka Jutithnak elektronmikroszkópos munkáért, illetve a kutatócsoport fiziológus munkatársainak, akiknek korábban már közölt páros elvezetéseit felhasználtam. Köszönetet szeretnék mondani továbbá Dr. Ozsvár Attilának, Dr. Rózsa Mártonnak, Dr. Fuzik Jánosnak, Tóth Martinnak, Mihut Norbertnek és Dr. Szegedi Viktornak a munka során felmerült kérdések produktív megvitatásáért.

Végezetül köszönöm családomnak taníttatásomat és Dr. Herédi Juditnak, hogy mellettem állt a munka során.

E munkát kollégám és barátom, Mihut Norbert emlékének ajánlom.

Irodalomjegyzék

- Acker, C. D., & Antic, S. D. (2009). Quantitative assessment of the distributions of membrane conductances involved in action potential backpropagation along basal dendrites. *Journal of Neurophysiology*, *101*(3), 1524–1541. <https://doi.org/10.1152/jn.00651.2007>
- Arshadi, C., Günther, U., Eddison, M., Harrington, K. I. S., & Ferreira, T. A. (2021). SNT: a unifying toolbox for quantification of neuronal anatomy. *Nature Methods*, *18*(4), 374–377. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01105-7>
- Azevedo, F. A. C., Carvalho, L. R. B., Grinberg, L. T., Farfel, J. M., Ferretti, R. E. L., Leite, R. E. P., Filho, W. J., Lent, R., & Herculano-Houzel, S. (2009). Equal numbers of neuronal and nonneuronal cells make the human brain an isometrically scaled-up primate brain. *Journal of Comparative Neurology*, *513*(5), 532–541. <https://doi.org/10.1002/cne.21974>
- Ballesteros Yáñez, I., Muñoz, A., Contreras, J., Gonzalez, J., Rodriguez-Veiga, E., & DeFelipe, J. (2005). Double bouquet cell in the human cerebral cortex and a comparison with other mammals. *Journal of Comparative Neurology*, *486*(4), 344–360. <https://doi.org/10.1002/cne.20533>
- Beaulieu-Laroche, L., Toloza, E. H. S., van der Goes, M.-S., Lafourcade, M., Barnagian, D., Williams, Z. M., Eskandar, E. N., Frosch, M. P., Cash, S. S., & Harnett, M. T. (2018a). Enhanced Dendritic Compartmentalization in Human Cortical Neurons. *Cell*, *175*(3), 643–651.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.045>
- Beaulieu-Laroche, L., Toloza, E. H. S., van der Goes, M. S., Lafourcade, M., Barnagian, D., Williams, Z. M., Eskandar, E. N., Frosch, M. P., Cash, S. S., & Harnett, M. T. (2018b). Enhanced Dendritic Compartmentalization in Human Cortical Neurons. *Cell*, *175*(3), 643–651.e14. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.08.045>
- Bekkers, J. M. (2011). Changes in dendritic axial resistance alter synaptic integration in cerebellar Purkinje cells. *Biophysical Journal*, *100*(5), 1198–1206. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2011.01.042>
- Benavides-Piccione, R., Ballesteros-Yáñez, I., DeFelipe, J., & Yuste, R. (2002). Cortical area and species differences in dendritic spine morphology. *Journal of Neurocytology*, *31*(3-5 SPEC. ISS.), 337–346. <https://doi.org/10.1023/A:1024134312173>
- Berger, T., Larkum, M. E., & Lüscher, H. R. (2001). High Ih channel density in the distal apical dendrite of layer V pyramidal cells increases bidirectional attenuation of EPSPs. *Journal of Neurophysiology*, *85*(2), 855–868. <https://doi.org/10.1152/jn.2001.85.2.855>
- Bloodgood, B. L., & Sabatini, B. L. (2005). Neuronal activity regulates diffusion across the neck of dendritic spines. *Science*, *310*(5749), 866–869. <https://doi.org/10.1126/science.1114816>
- Boldog, E., Bakken, T. E., Hodge, R. D., Novotny, M., Aevermann, B. D., Baka, J., Bordé, S., Close, J. L., Diez-Fuertes, F., Ding, S. L., Faragó, N., Kocsis, Á. K., Kovács, B., Maltzer, Z., McCorrison, J. M., Miller, J. A., Molnár, G., Oláh, G., Ozsvár, A., ... Tamás, G. (2018). Transcriptomic and morphophysiological evidence for a specialized human cortical GABAergic cell type. *Nature Neuroscience*, *21*(9), 1185–1195.

<https://doi.org/10.1038/s41593-018-0205-2>

- Brunner, J., & Szabadics, J. (2016). Analogue modulation of back-propagating action potentials enables dendritic hybrid signalling. *Nature Communications*, 7. <https://doi.org/10.1038/ncomms13033>
- Campagnola, L., Seeman, S. C., Chartrand, T., Kim, L., Hoggarth, A., Gamlin, C., Ito, S., Trinh, J., Davoudian, P., Radaelli, C., Kim, M. H., Hage, T., Braun, T., Alfiler, L., Andrade, J., Bohn, P., Dalley, R., Henry, A., Kebede, S., ... Jarsky, T. (2022). Local connectivity and synaptic dynamics in mouse and human neocortex. *Science*, 375(6585). <https://doi.org/10.1126/science.abj5861>
- Castillo, J., & Moore, J. W. (1959). *ON INCREASING THE VELOCITY OF A NERVE IMPULSE*. 665–670.
- Cragg, B. Y. B. G., & Hamlyn, L. H. (1955). ACTION POTENTIALS OF THE PYRAMIDAL NEURONES IN THE HIPPOCAMPUS OF THE RABBIT From the Department of Anatomy , University College London action potentials of neurones by extracellular recording . The cell bodies of the The responses to be described in this. *Journal of Physiology*, 1954, 608–627.
- Defelipe, J. (2011). The evolution of the brain, the human nature of cortical circuits, and intellectual creativity. *Frontiers in Neuroanatomy*, 5(May), 29. <https://doi.org/10.3389/fnana.2011.00029>
- Deitcher, Y., Eyal, G., Kanari, L., Verhoog, M. B., Atenekeng Kahou, G. A., Mansvelder, H. D., De Kock, C. P. J., & Segev, I. (2017). Comprehensive Morpho-Electrotonic Analysis Shows 2 Distinct Classes of L2 and L3 Pyramidal Neurons in Human Temporal Cortex. *Cerebral Cortex*, 27(11), 5398–5414. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhx226>
- Eyal, G., Verhoog, M. B., Testa-Silva, G., Deitcher, Y., Lodder, J. C., Benavides-Piccione, R., Morales, J., DeFelipe, J., de Kock, C. P. J., Mansvelder, H. D., & Segev, I. (2016). Unique membrane properties and enhanced signal processing in human neocortical neurons. *ELife*, 5(OCTOBER2016), 1–18. <https://doi.org/10.7554/eLife.16553>
- Fedchyshyn, M. J., & Wang, L. Y. (2007). Activity-dependent changes in temporal components of neurotransmission at the juvenile mouse calyx of Held synapse. *Journal of Physiology*, 581(2), 581–602. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.129833>
- Gasparini, S., & Magee, J. C. (2006). State-dependent dendritic computation in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, 26(7), 2088–2100. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4428-05.2006>
- Gentet, L. J., Stuart, G. J., & Clements, J. D. (2000). Direct measurement of specific membrane capacitance in neurons. *Biophysical Journal*, 79(1), 314–320. [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(00\)76293-X](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76293-X)
- Gidon, A., Zolnik, T. A., Fidzinski, P., Bolduan, F., Papoutsi, A., Poirazi, P., Holtkamp, M., Vida, I., & Larkum, M. E. (2020). Dendritic action potentials and computation in human layer 2/3 cortical neurons. *Science*, 367(6473), 83–87. <https://doi.org/10.1126/science.aax6239>
- Golding, N. L., Jung, H. Y., Mickus, T., & Spruston, N. (1999). Dendritic calcium spike initiation and repolarization are controlled by distinct potassium channel subtypes in CA1 pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, 19(20), 8789–8798.

<https://doi.org/10.1523/jneurosci.19-20-08789.1999>

- Golding, N. L., Kath, W. L., & Spruston, N. (2001). Dichotomy of action-potential backpropagation in CA1 pyramidal neuron dendrites. *Journal of Neurophysiology*, *86*(6), 2998–3010. <https://doi.org/10.1152/jn.2001.86.6.2998>
- Golding, N. L., Mickus, T. J., Katz, Y., Kath, W. L., & Spruston, N. (2005). Factors mediating powerful voltage attenuation along CA1 pyramidal neuron dendrites. *Journal of Physiology*, *568*(1), 69–82. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.086793>
- Golding, N. L., & Spruston, N. (1998). Dendritic sodium spikes are variable triggers of axonal action potentials in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Neuron*, *21*(5), 1189–1200. [https://doi.org/10.1016/S0896-6273\(00\)80635-2](https://doi.org/10.1016/S0896-6273(00)80635-2)
- Gooch, H. M., Bluett, T., Perumal, M. B., Vo, H. D., Fletcher, L. N., Papacostas, J., Jeffree, R. L., Wood, M., Colditz, M. J., McMillen, J., Tsahtsarlis, T., Amato, D., Campbell, R., Gillinder, L., & Williams, S. R. (2022). High-fidelity dendritic sodium spike generation in human layer 2/3 neocortical pyramidal neurons. *Cell Reports*, *41*(3), 111500. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.111500>
- Häusser, M., Stuart, G., Racca, C., & Sakmann, B. (1995). *Axonal Initiation and Active Dendritic Propagation of Action Potentials in Substantia Nigra Neurons*. *15*, 637–647.
- Hu, H., Martina, M., & Jonas, P. (2010). Dendritic mechanisms underlying rapid synaptic activation of fast-spiking hippocampal interneurons. *Science*, *327*(5961), 52–58. <https://doi.org/10.1126/science.1177876>
- Huang, Z., Walker, M. C., & Shah, M. M. (2009). Loss of dendritic HCN1 subunits enhances cortical excitability and epileptogenesis. *Journal of Neuroscience*, *29*(35), 10979–10988. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1531-09.2009>
- Kalmbach, B. E., Buchin, A., Long, B., Close, J., Nandi, A., Miller, J. A., Bakken, T. E., Hodge, R. D., Chong, P., de Frates, R., Dai, K., Maltzer, Z., Nicovich, P. R., Keene, C. D., Silbergeld, D. L., Gwinn, R. P., Cobbs, C., Ko, A. L., Ojemann, J. G., ... Ting, J. T. (2018). h-Channels Contribute to Divergent Intrinsic Membrane Properties of Supragranular Pyramidal Neurons in Human versus Mouse Cerebral Cortex. *Neuron*, *100*(5), 1194–1208.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.10.012>
- Kampa, B. M., & Stuart, G. J. (2006). Calcium spikes in basal dendrites of layer 5 pyramidal neurons during action potential bursts. *Journal of Neuroscience*, *26*(28), 7424–7432. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3062-05.2006>
- Katz, Y., Menon, V., Nicholson, D. A., Geinisman, Y., Kath, W. L., & Spruston, N. (2009). Synapse Distribution Suggests a Two-Stage Model of Dendritic Integration in CA1 Pyramidal Neurons. *Neuron*, *63*(2), 171–177. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.06.023>
- Kim, Y., Hsu, C. L., Cembrowski, M. S., Mensh, B. D., & Spruston, N. (2015). Dendritic sodium spikes are required for long-term potentiation at distal synapses on hippocampal pyramidal neurons. *eLife*, *4*(AUGUST2015), 1–30. <https://doi.org/10.7554/eLife.06414>
- Komlósi, G., Molnár, G., Rózsa, M., Oláh, S., Barzó, P., & Tamás, G. (2012). Fluoxetine (Prozac) and serotonin act on excitatory synaptic transmission to suppress single layer 2/3 pyramidal neuron-triggered cell assemblies in the human prefrontal cortex. *Journal of Neuroscience*, *32*(46), 16369–16378. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2618->

12.2012

- Larkum, M. E., Kaiser, K. M. M., & Sakmann, B. (1999). Calcium electrogenesis in distal apical dendrites of layer 5 pyramidal cells at a critical frequency of back-propagating action potentials. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *96*(25), 14600–14604. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.25.14600>
- Larkum, M. E., Zhu, J. J., & Sakmann, B. (2001). Dendritic mechanisms underlying the coupling of the dendritic with the axonal action potential initiation zone of adult rat layer 5 pyramidal neurons. *Journal of Physiology*, *533*(2), 447–466. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.0447a.x>
- Larkum, Matthew E., Rioult, M. G., & Lüscher, H. R. (1996). Propagation of action potentials in the dendrites of neurons from rat spinal cord slice cultures. *Journal of Neurophysiology*, *75*(1), 154–170. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.75.1.154>
- Larkum, Matthew E., Senn, W., & Lüscher, H. R. (2004). Top-down dendritic input increases the gain of layer 5 pyramidal neurons. *Cerebral Cortex*, *14*(10), 1059–1070. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhh065>
- Larkum, Matthew E., Nevian, T., Sandler, M., Polsky, A., & Schiller, J. (2009). Synaptic Integration in Tuft Dendrites of Layer 5 Pyramidal Neurons: A New Unifying Principle. *Science*, *325*(5941), 756–760. <https://doi.org/10.1126/science.1171958>
- Lemon, N., & Turner, R. W. (2000). Conditional spike backpropagation generates burst discharge in a sensory neuron. *Journal of Neurophysiology*, *84*(3), 1519–1530. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.84.3.1519>
- Li, Z., Okamoto, K. I., Hayashi, Y., & Sheng, M. (2004). The importance of dendritic mitochondria in the morphogenesis and plasticity of spines and synapses. *Cell*, *119*(6), 873–887. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.11.003>
- Llinas, R., & Nicholson, C. (1971). Electrophysiological properties of dendrites and somata in alligator Purkinje cells. *Journal of Neurophysiology*, *34*(4), 532–551. <https://doi.org/10.1152/jn.1971.34.4.532>
- London, M., & Häusser, M. (2005). Dendritic Computation. *Annual Review of Neuroscience*, *28*(1), 503–532. <https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.28.061604.135703>
- Longair, M. H., Baker, D. A., & Armstrong, J. D. (2011). Simple neurite tracer: Open source software for reconstruction, visualization and analysis of neuronal processes. *Bioinformatics*, *27*(17), 2453–2454. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr390>
- Lörincz, A., Notomi, T., Tamás, G., Shigemoto, R., & Nusser, Z. (2002). Polarized and compartment-dependent distribution of HCN1 in pyramidal cell dendrites. *Nature Neuroscience*, *5*(11), 1185–1193. <https://doi.org/10.1038/nn962>
- Lorincz, A., & Nusser, Z. (2010). Molecular identity of dendritic voltage-gated sodium channels. *Science*, *328*(5980), 906–909. <https://doi.org/10.1126/science.1187958>
- Losonczy, A., & Magee, J. C. (2006). Integrative Properties of Radial Oblique Dendrites in Hippocampal CA1 Pyramidal Neurons. *Neuron*, *50*(2), 291–307. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2006.03.016>
- Magee, J. C., & Carruth, M. (1999). Dendritic voltage-gated ion channels regulate the action potential firing mode of hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of*

- Neurophysiology*, 82(4), 1895–1901. <https://doi.org/10.1152/jn.1999.82.4.1895>
- Magó, Á., Kis, N., Lükő, B., & Makara, J. K. (2021). Distinct dendritic ca²⁺ spike forms produce opposing input-output transformations in rat ca3 pyramidal cells. *ELife*, 10, 1–21. <https://doi.org/10.7554/eLife.74493>
- Major, G., Larkman, A. U., Jonas, P., Sakmann, B., & Jack, J. J. B. (1994). Detailed passive cable models of whole-cell recorded CA3 pyramidal neurons in rat hippocampal slices. *Journal of Neuroscience*, 14(8), 4613–4638. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.14-08-04613.1994>
- Makara, J. K., & Magee, J. C. (2013). Variable dendritic integration in hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Neuron*, 80(6), 1438–1450. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.033>
- Metz, A. E., Spruston, N., & Martina, M. (2007). Dendritic D-type potassium currents inhibit the spike afterdepolarization in rat hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of Physiology*, 581(1), 175–187. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.127068>
- Mohan, H., Verhoog, M. B., Doreswamy, K. K., Eyal, G., Aardse, R., Lodder, B. N., Goriounova, N. A., Asamoah, B., Brakspear, A. B. C., Groot, C., Van Der Sluis, S., Testa-Silva, G., Obermayer, J., Boudewijns, Z. S. R. M., Narayanan, R. T., Baayen, J. C., Segev, I., Mansvelder, H. D., & De Kock, C. P. J. (2015). Dendritic and axonal architecture of individual pyramidal neurons across layers of adult human neocortex. *Cerebral Cortex*, 25(12), 4839–4853. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhv188>
- Molnár, G., Oláh, S., Komlósi, G., Füle, M., Szabadics, J., Varga, C., Barzó, P., & Tamás, G. (2008). Complex events initiated by individual spikes in the human cerebral cortex. *PLoS Biology*, 6(9), 1842–1849. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060222>
- Molnár, G., Rózsa, M., Baka, J., Holderith, N., Barzó, P., Nusser, Z., & Tamás, G. (2016). Human pyramidal to interneuron synapses are mediated by multi-vesicular release and multiple docked vesicles. *ELife*, 5(AUGUST), 1–12. <https://doi.org/10.7554/eLife.18167>
- Norenberg, A., Hu, H., Vida, I., Bartos, M., & Jonas, P. (2010). Distinct nonuniform cable properties optimize rapid and efficient activation of fast-spiking GABAergic interneurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(2), 894–899. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910716107>
- Oberheim, N. A., Takano, T., Han, X., He, W., Lin, J. H. C., Wang, F., Xu, Q., Wyatt, J. D., Pilcher, W., Ojemann, J. G., Ransom, B. R., Goldman, S. A., & Nedergaard, M. (2009). Uniquely Hominid Features of Adult Human Astrocytes. *Journal of Neuroscience*, 29(10), 3276–3287. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4707-08.2009>
- Palmer, L. M., & Stuart, G. J. (2006). Site of action potential initiation in layer 5 pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, 26(6), 1854–1863. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4812-05.2006>
- Roth, A., & Häusser, M. (2001). Compartmental models of rat cerebellar Purkinje cells based on simultaneous somatic and dendritic patch-clamp recordings. *Journal of Physiology*, 535(2), 445–472. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.00445.x>
- Saito, Y., Inoue, T., Zhu, G., Kimura, N., Okada, M., Nishimura, M., Kimura, N., Murayama, S., Kaneko, S., Shigemoto, R., Imoto, K., & Suzuki, T. (2012). Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated channels: A potential molecular link between epileptic

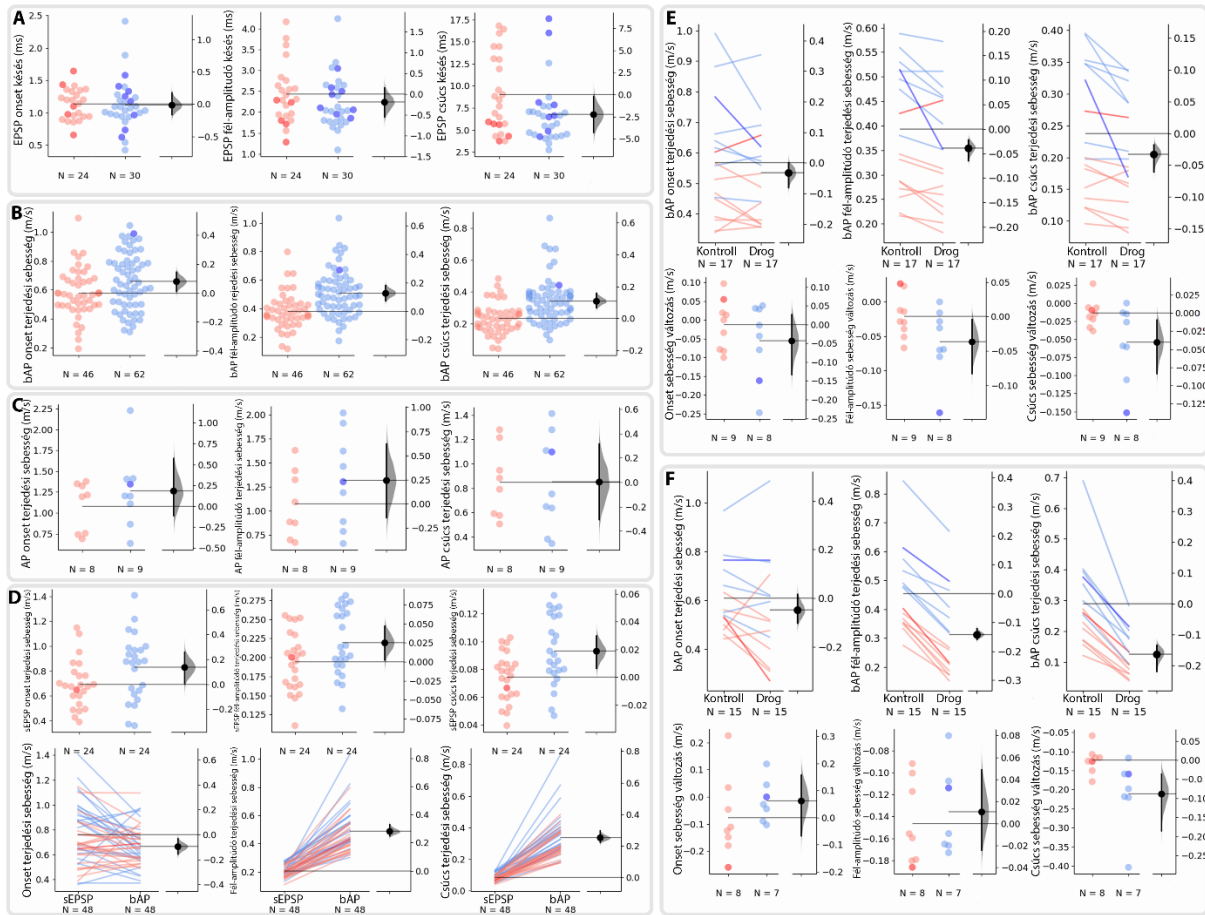
- seizures and A β generation in Alzheimer's disease. *Molecular Neurodegeneration*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-50>
- Schiller, J., Major, G., Koester, H. J., & Schiller, Y. (2000). NMDA spikes in basal dendrites of cortical pyramidal neurons. *Nature*, 404(6775), 285–289. <https://doi.org/10.1038/35005094>
- Spruston, N., Schiller, Y., Stuart, G., & Sakmann, B. (1995). Activity-dependent action potential invasion and calcium influx into hippocampal CA1 dendrites. *Science*, 268(5208), 297–300. <https://doi.org/10.1126/science.7716524>
- Stuart, Greg J., M. H. (2001). Dendritic coincidence detection of EPSPs and action potentials. *Nat. Neurosci.*, 4, 63–71.
- Stuart, G. J., & Sakmann, B. (1994). Active propagation of somatic action potentials into neocortical pyramidal cell dendrites. *Nature*, 367, 69–72. <https://doi.org/10.1038/367069a0>
- Stuart, G., & Spruston, N. (1998). Determinants of voltage attenuation in neocortical pyramidal neuron dendrites. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 18(10), 3501–3510. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9570781>
- Stuart, Greg, Schiller, J., & Sakmann, B. (1997). Action potential initiation and propagation in rat neocortical pyramidal neurons. *Journal of Physiology*, 505(3), 617–632. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1997.617ba.x>
- Szegedi, V., Paizs, M., Csakvari, E., Molnar, G., Barzo, P., Tamas, G., & Lamsa, K. (2016). Plasticity in Single Axon Glutamatergic Connection to GABAergic Interneurons Regulates Complex Events in the Human Neocortex. *PLoS Biology*, 14(11), 1–21. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2000237>
- Tang, Y., Nyengaard, J. R., De Groot, D. M. G., & Gundersen, H. J. G. (2001). Total regional and global number of synapses in the human brain neocortex. *Synapse*, 41(3), 258–273. <https://doi.org/10.1002/syn.1083>
- Verhoog, M. B., Goriounova, N. A., Obermayer, J., Stroeder, J., Johannes Hjorth, J. J., Testa-Silva, G., Baayen, J. C., de Kock, C. P. J., Meredith, R. M., & Mansvelder, H. D. (2013). Mechanisms underlying the rules for associative plasticity at adult human neocortical synapses. *Journal of Neuroscience*, 33(43), 17197–17208. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3158-13.2013>
- Waters, J., Larkum, M., Sakmann, B., & Helmchen, F. (2003). Supralinear Ca²⁺ influx into dendritic tufts of layer 2/3 neocortical pyramidal neurons in vitro and in vivo. *Journal of Neuroscience*, 23(24), 8558–8567. <https://doi.org/10.1523/jneurosci.23-24-08558.2003>
- Wei, D. S., Mei, Y. A., Bagal, A., Kao, J. P. Y., Thompson, S. M., & Tang, C. M. (2001). Compartmentalized and binary behavior of terminal dendrites in hippocampal pyramidal neurons. *Science*, 293(5538), 2272–2275. <https://doi.org/10.1126/science.1061198>
- Williams, S. R., & Stuart, G. J. (1999). Mechanisms and consequences of action potential burst firing in rat neocortical pyramidal neurons. *Journal of Physiology*, 521(2), 467–482. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.1999.00467.x>
- Williams, S. R., & Stuart, G. J. (2000). Site independence of EPSP time course is mediated by dendritic I(h) in neocortical pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*, 83(5),

3177–3182. <https://doi.org/10.1152/jn.2000.83.5.3177>

Winfield, D. A., Gatter, K. C., & Powell, T. P. S. (1980). An electron microscopic study of the types and proportions of neurons in the cortex of the motor and visual areas of the cat and rat. *Brain*, *103*(2), 245–258. <https://doi.org/10.1093/brain/103.2.245>

Wong, R. K. S., Prince, D. A., & Basbaum, A. I. (1979). Intradendritic recordings from hippocampal neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *76*(2), 986–990. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.2.986>

Függelék



Függelék ábra 1: szinaptikus késés és sebesség adatok, a terjedő elektromos jelek különböző pontjain mérve a szakirodalomban található korábbi adatokhoz való könnyebb hasonlítás érdekében. **A:** páros elvezetések során mért EPSP-k latenciája a preszinaptikus AP csúcspontjához képest. A sötétebb pontok a rekonstruált sejtárokat jelölik. **B:** bAP sebessége a terjedő hullámforma különböző kitüntetett pontjainál mérve. **C:** Hasonló mint B csak az axonális elvezetések során mért AP terjedési sebességekre. **D:** felső panelek hasonlóak mint B, csak a szimulált EPSP elvezetések során mért adatokra. Alsó panelek: a sejtek sEPSP és bAP sebesség adatait mutatják be. **E:** Felső panelek: a ZD7288 (HCN csatorna blokkolás) hatása a bAP-k terjedési sebességére. Alsó panelek: a ZD7288 hatására bekövetkező sebesség csökkenés patkány és ember sejtek esetében. **F:** Hasonló mint E csak az aktív konduktanciák gátlásának hatására (AP5, CdCl₂, TTX). A piros szín a patkány méréseket a kék az emberi agyszöveten készült méréseket jelöli. A sötétebb pontok a fő ábrákon bemutatott reprezentatív sejteket jelölik.