

A POSZTSZINAPTIKUS NEURON SZEREPE AGYKÉRGI
PLASZTIKUS VÁLTOZÁSOK LÉTREJÖTTÉBEN

Egyetemi doktori értekezés

Irta:

Baranyi Attila

biológus

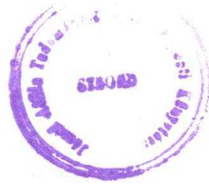
1977

SZEGED

Készült: a JATE Összehasonlító Élettani Tanszékén

Tanszékvezető: Dr. Fehér Ottó egyetemi tanár

B1423



BEVEZETÉS

Az állatok komplex viselkedési folyamatai során megfigyelhető változások sok esetben feltételezik az idegrendszer tartós, funkcionális állapotváltozásait.

Az idegi vagy neuronális plaszticitás fogalma az idegrendszeri funkció többé-kevésbé tartós, mégis legtöbbször reverzibilis állapotváltoztatási képességét jelenti / Kornorski 1948, Young 1951, Eccles 1953, Kandel és Spencer 1968, Baumgarten 1970, Thompson és mtsai 1972, Voronin 1976 /.

A neuronális plaszticitás az idegrendszer biológiai alkalmazkodóképességének olyan vetülete, melynek során a biológiailag releváns ingerek információértéke tartósan megváltozik és az állat számára alkalmazkodási értékkel bíró új magatartási formák és reakciótipusok megjelenéséhez vezet.

A fentiekből következik, hogy a neuronális plaszticitás a viselkedés során megfigyelhető tanulási mechanizmusok és az idegrendszeri információátvitel alapját képezheti. Felmerül a kérdés, milyen idegrendszeri struktúrához vagy működéshez rendelhető a plaszticitás, milyen lehetséges celluláris mechanizmusokból tevődik össze?

A különböző neuronhálózatokban fejlődő idegsejtek szinaptikus kapcsolatképződése és hálózattá szerveződésének mechanizmusa mai ismereteink szerint az ugynevezett szelektív stabilizáció elve alapján, kemospecifikusan determinált.

Minden neuron csak meghatározott célsejtek vagy struktúrák felé küld nyulványokat.

A célsejtekből speciális biokémiai anyagok kiáramlása hat a nyulványképző sejtekre és azok kinövő végződéseit magához irányítja / Sperry 1965, Hubel és Wiesel 1965, Gaze és Keating 1972, Blakemore 1974, Changeux és Dautin 1976, Smith és Kreuzberg 1976 /.

A genetikailag és fejlődéstanilag meghatározott sorrendet követő történések kialakítják a fajra jellemző idegrendszer strukturális alapjait.

A normális idegi struktúra és funkció kialakulásához azonban környezeti faktorok időleges jelenléte is szükséges az egyedfejlődés során / Sperry 1965, Hubel és Wiesel 1965 /.

A kifejlett idegrendszerben plaszticitási, tanulási folyamatok egészen gyorsan, percek vagy másodpercek alatt lejátszódhatnak.

Ilyen esetekben nehezen képzelhető el, hogy új idegsejtek vagy új nyulványok képződnek és szükségesek az új kapcsolat kialakulásához / Kandel 1974 /.

Sokkal inkább valószínű, hogy már előzőleg is meglévő sejtek funkcionális sajátosságai változnak meg a tanulási folyamatban vagy a sejtek közötti kapcsolatok hatékonysága nő. Mivel a plaszticitás megjelenési formái igen változatosak, sokféle megközelítést alkalmaztak az elemi jelenségek feltárása céljából.

Az irodalmi anyag tárgyalása és szelekciója szempontjából kiindulva röviden összefoglalom azokat az elméleti munkákat és kísérleti eredményeket, melyek az idegsejtplaszticitás celluláris mechanizmusait tárgyalják.

A kutatások egyik irányzata a viselkedés változásainak bizonyos konkrét eseteit, illetve azok lehetséges celluláris

mechanizmusait, leggyakrabban a habituációt, vagy a tanulás más egyszerűbb típusait, pl: klasszikus kondicionálást, *Aplysia* szifóreflex habituációt, menekülési reflexeket, stb. elemzik / Kandel és Spencer 1968, Woody és mtsai 1973, 1976, Kandel 1974, Kupfermann 1975, Voronin 1976 /.

Egy másik irányu megközelítés a neuronális plaszticitás modell eseteivel foglalkozik, melyekben a plaszticitás viselkedésbeli megnyilvánulása nem annyira nyilvánvaló.

Ide tartoznak a különböző frekvenciapotencirozások, a posztotetanikus potencirozódás / PTP /, továbbá izolált gerinctelen preparátumokon végzett elemzések / Eccles 1964, Lomo és Rosenthal 1972, Burows és Hoyle 1973, Weight 1974, 1976 /.

Modern biokémiai megközelítéssel szintén vizsgálható a neuronális plaszticitás. A biokémia eredményei értékes adatokat szolgáltatnak a plaszticitás bizonyos típusainak elemzéséhez / Dunn 1976, Greengard 1976 /.

Mivel vizsgálataink során biokémiai módszereket nem alkalmaztunk, ezért a biokémiai megközelítés részletes tárgyalásától eltekintek.

A kísérleti eredményekből kiindulva, a neuronális plaszticitást celluláris szinten értelmező teóriák szintén kétféle lehetőséget javasolnak.

Számos elmélet a szinaptikus átvitel hatékonyságának változását jelöli meg a plaszticitás okaként / Konorski 1948, Hebb 1949, Eccles 1953, 1972, Burns 1958, Morell 1961, Griffith 1966, Burke 1966, Wurtz és mtsai 1967, Brindley

1967, Horridge 1968, Kandel és Spencer 1968, Bliss és mtsai 1968, Gardner-Medwin 1969, Marr 1970, Lomo 1971, Lomo és Rosenthal 1971, Stent 1973, Bliss és Lomo 1973, Kandel 1974, Voronin 1974, 1976, Jacklet és Lukowiak 1975, Kupfermann 1975, Weight 1974, 1976, Weiss és Kupfermann 1976 /.

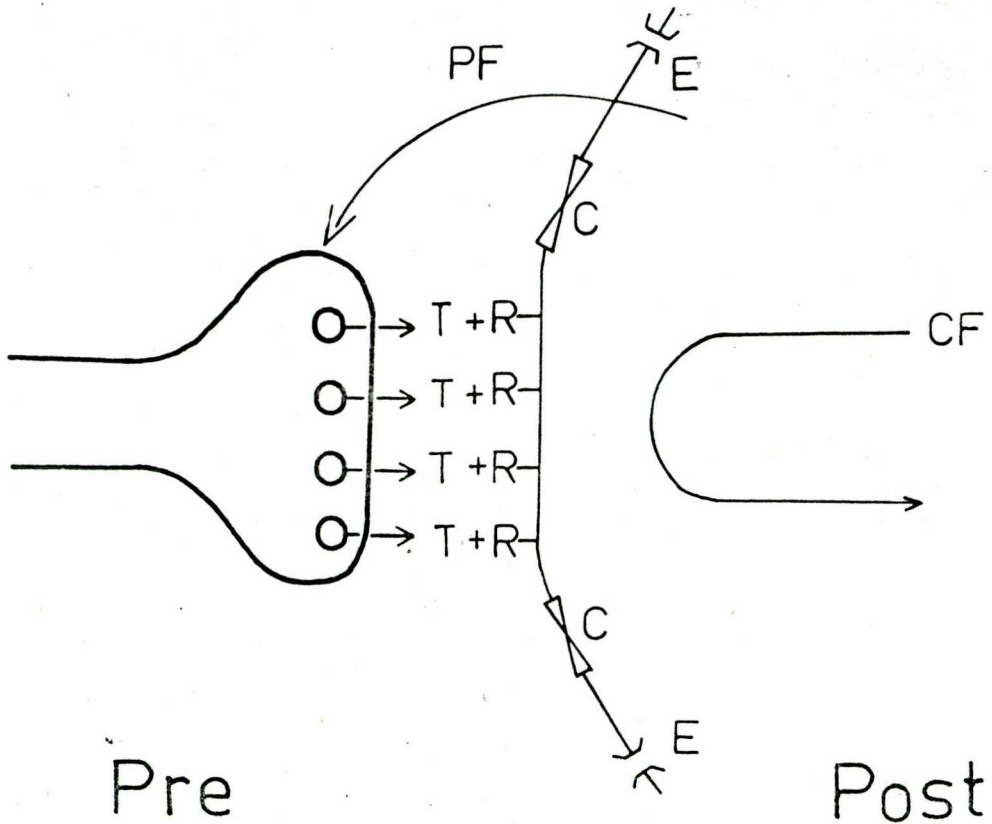
Más szerzők nem speciálisan a szinaptikus régióhoz kapcsolódó változásokat is feltételeznek a plaszticitás létrejöttében.

Ilyenek pl: a neuronális membrán ritmikus ingerküszöbváltozásai, a pace-maker sejtek endogén ritmusának megváltozása külső, ritmikus ingerlésre / Shimbel 1950, Kandel és Spencer 1968, Baumgarten 1970, Woody és mtsai 1973, 1976, Stephens 1973, Kandel 1974, Voronin 1976 /.

A szinaptikus átvitel hatékonyságának változása a legáltalánosabban elfogadott és leginkább bizonyított elmélet. Egyszerű rendszerekben a megfigyelhető plasztikus változások általában rövid tartamúak és nem világos miként lesznek tartós / long-term / funkcionális változássá. Kiderült a további vizsgálatok során, hogy viszonylag kis számú megfigyelt neuron mutat plaszticitást / Kandel és Tauc 1965, Bures és Buresova 1968, Baumgarten 1970, Voronin 1976 /.

A szinaptikus átvitel hatékonyságának megváltozása többféle úton történhet.

A lehetőségeket változatosan szemléltetem az 1. ábrán.



1. ábra. A preszinaptikus végződésből felszabaduló / Pre / transzmitter / T / kapcsolódik a posztoszínaptikus membrán / Post / megfelelő receptorjaihoz / R /. A receptorok aktiválódása a szinaptikus zóna lokális aktivitását valamilyen membránalkotó segítségével / C=coupling vagy kapcsolófaktor / átviszi az elektrogén ionmechanizmusokat lebonyolító ioncsatornákhöz / E /. A szinapszisműködés kapcsán fellépő receptoraktiválódás kölcsönös szinaptikus-citoplazmatikus anyagáramlásokat okoz / CF=citoplazma faktorok /. A posztoszínaptikus membránból anyagok léphetnek ki az extracelluláris térbe. / PF=posztoszínaptikus faktorok / és hatnak a preszinaptikus végződésből történő transzmitter felszabadulásra.

A lehetséges változások:

A./ Preszinaptikus aktivitás változás

a./ A szinaptikus végződés ismételt ingerlései következtében.

b./ Más szinapszisok preszinaptikus hatásai miatt.

B./ Változik a posztszinaptikus receptorok száma és szenzitivitása.

C./ Változnak a posztszinaptikus membrán elektromos jellemzői.

D./ A posztszinaptikus membránból anyagok léphetnek ki, melyek megváltoztatják a preszinaptikus aktivitást.

E./ A receptorok és ioncsatornák közötti kapcsolat hatásfoka növekedik.

A./ Preszinaptikus aktivitásváltozás, vagy módosult transzmitterfölszabadulás

a./ A szinaptikus végződés ismétlődő aktivációja által.
Régóta ismert, hogy ismétlődő ingerlésre a neuronok és szinapszisok az ingerlés frekvenciájától függően növelhetik vagy csökkenthetik működésük hatásfokát / Eccles 1953 /.

A posztetanus potencirozódás / PTP / és habituáció néven ismert plaszticitási folyamatokat a preszinaptikus végződésből történő transzmitterfölszabadulás megváltozásának tulajdonítják / Kandel 1974, Weight 1974/.

- Posztetanus potencirozódás -

A preszinaptikus utak magas frekvenciájú ingerlése /40-400/ sec az ingerlés frekvenciájától, időtartamától függően néhány percig elhuzódó facilitációt és azt követően depresziót hoz létre a posztszinaptikus neuron tüzelési aktivi-

tásában / Larrabe és Bronk 1947, Lloyd 1949, Liley és North 1953, Curtis és Eccles 1960, Hubbard 1963, Martin és Pilar 1964, Katz és Miledi 1968, Weight 1974 /. Magas frekvenciájú tetanizálás szinte minden vizsgált objektumon létrehozza PTP-t, melynek magyarázatát összefüggésbe hozzák a Ca^{++} preszinaptikus, intracelluláris akkumulációjával / Katz és Miledi 1968, Weight 1974, Kupfermann 1975 /.

Az agykérgi neuronok szintén mutatnak posztetanus hatásokat magas frekvenciájú tetanizáló ingerlésre, melynek következtében néhány másodpercig tartó felfokozott ingerületi állapot után tartós depresszió következik / Martin és Branch 1958, Krnjevic és mtsai 1966, Voronin 1969, 1976 /.

Ha az ingerlés frekvenciáját 30-40/sec alá csökkentjük, akkor a vizsgált strukturától függően más és más eredménye lesz a kondicionáló ingerlésnek.

Aplysia neuronokon 15-20/sec frekvenciával lehet tetanizálni és eredménye 5-10 percig fennáll. Gerincvelőn 40/sec alatti frekvencia nem tetanizál / Kandel és Tauc 1965, Curtis és Eccles 1960 /.

Ugyanakkor a hippocampus granulasejtjeinek 10-20/sec. frekvenciával történő néhány másodpercig tartó tetanizálása órákig elhuzódó potencirozódást hoz létre / Lomo 1971, Bliss és Lomo 1973 /.

Ellentétben az archicortex neuronjaival, az agykéreg idegsejtjeinek 5-20 sec. frekvenciájú ortodrom tetanizá-

lása az intracorticalis gátlórendszerek aktiválódása miatt, átmeneti potencirozódás után depresszóhoz vezet.

/ Li és mtsai 1963, Krnjovic és mtsai 1966, Nacimiento és mtsai 1964 /.

Tehát ugyanolyan frekvenciával végrehajtott tetanizálás, mely hosszú ideig tartó plasztikus változásokat hoz létre a hippocampusban, agykérgi neuronokra nincs ilyen hatással.

Jellegzetes kérgi válasz alakul ki a specifikus és nem-specifikus thalamusmagvak 7-12/sec. frekvenciájú ingerlésekor. Az intracelluláris sejtaktivitás jellemzője a késői EPSP-komponensek / kb: 20-30 msec latenciaértékek mellett / megnagyobbodása és a gátlások attenuálódása.

A jelenséget specifikus thalamusmagvak esetén augmentációnak nevezzük, míg nem specifikus thalamusmagvak esetén kiváltott recruiting aktivitásról beszélünk. Noha a két jellegzetes kérgi válasz mutat bizonyos közös jellemzőket, mégis a recruiting aktivitásban fázisosan jelentkező gátlási periódusoknak lényeges szerepet kell tulajdonítanunk / Andersen 1974 /. A kérdéskör részletes tárgyalására a Diskusszió c. fejezetben visszatérek. Az augmenting és recruiting típusu kérgi válaszok exogén eredetűek / thalamikus pacc-makrok / és izolált kéregben nem jönnek létre / Li és mtsai 1963, Klee és Offenloch 1964, Nacimiento és mtsai 1964, Purpura és Shofer 1964, Oetzfeldt és mtsai 1964, 1966, 1974, Andersen, Andersson, Lomo 1967, Andersen és Andersson 1968, Andersen 1974/.

Az előzőekben leírtak alapján látható, hogy 5-40/sec. ingerlésekre adott celluláris válaszok erősen függenek a neuron adott neuronhálózatban való elhelyezkedésétől / Eccles 1972 /.

Ugyanakkor az egyes szinapszisok "plaszticitási képessége" is eltérő. Kimutatták, hogy a gerincevelői motoneuronok motoros kérgi piramissejtekből eredő monoszínaptikus EPSP-i lényegesen nagyobb mértékű potencirozódást mutatnak hasonló frekvenciákra, mint ugyanazon motoneuron perifériáról eredő monoszínaptikus EPSP-i / Landgren, Phillips és Porter 1962, Porter 1970 /. Megemlítem, hogy rövid, magasfrekvenciájú "burst-szerű" ingerlés /2-500/sec / igen gyors EPSP vagy IPSP potencirozódást hoz létre kérgi neuronokban is / Phillips 1956, 1959, Stefanis és Jasper 1964, Humphrey 1968 /.

- Habitáció -

A gerinctelen és gerinces állatok perifériás és központi idegrendszerében sokoldalúan elemzett plaszticitási folyamat. Ennek ellenére a tényleges létrehozó oka mindmáig ismeretlen. Igen alacsony frekvenciájú / 0,5/sec alatti / elhuzódó, monoton ingerlés a válasz csökkenéséhez vezet csaknem minden idegi strukturában, mely néhány esetben bizonyítottan csökkent mértékű transzmitterfölszabadulással jár. / Thompson és mtsai 1972, Kandel 1974, Kupfermann 1975 /.

Habitáció alatt a célneuron posztzinaptikus membránjának elektromos jellemzői / ingerküszöb; antidrom és direkt kiváltott akcióspotenciál magassága, a membránkon-



duktancia és membránpotenciál értéke / nem változnak / Farcl és Thompson 1976 /.

A későbbiek során még visszatérek Stephens / 1973 / vizsgálatainak elemzéséhez, aki a fentiekől eltérő eredményekre jutott.

Az előzőek során röviden elemzett poszttetanikus potencirozódás, és habituáció, homoszinaptikus kapcsolatok jellemző plaszticitási effektusai: az izomvéglemezen ugyanugy kimutathatók mint az agykéregben.

b./ A szinaptikus átvitel hatékonyságának változása más szinapszisok preszinaptikus hatásai következtében. Heteroszínaptikus facilitáció / HF./

Részletekbe menő intracelluláris elemzések Aplysia ganglionsejteken a heteroszínaptikus facilitációt a szinaptikus hatékonyság preszinaptikus eredetű növekedésének mutatják / Kandel és Spencer 1968, Kandel 1974, Shimahara és Tauc 1976 /.

Mégis az előzőek során leírt poszttetanikus potencirozódástól és habituációtól lényegileg eltérő folyamat, mely legalább kétféle ingerület konvergenciáját és tartós kölcsönhatását jelenti az adott neuronon.

Speciális tér időbeli kapcsolat esetén a klasszikus, pavlovi vagy másként I. típusu tanulás és az un. asszociatív tanulási folyamatok celluláris analógjának tekinthető / Kandel és Tauc 1965, Baumgarten 1970, Kandel 1974, Kupfermann 1975 /.

A heteroszínaptikus facilitáció idején lejátszódó folyamatok alaposabb ismerete methodikailag jól hozzáférhető és celluláris szinten is megfelelően vizsgálható rendszert

igényel.

Aplysia neuronokon, a heteroszínaptikus facilitáció kiépítése során olyan kísérleti sémát követtek, mely szerint a gyengébb impulzus / test=posztszínaptikus potenciált kiváltó / megelőzte az erősebbet, az akcióspotenciált kiváltó / prime /.

A klasszikus kondicionálás eljárásainak megfelelően, szigoru időbeliség mellett végezve a társításokat, az EPSP növekedni kezdett és az akcióspotenciál generálás szintjére emelkedett. Az EPSP azonban akkor is facilitálódott, ha az orés stimulációt egyedül, 10-15/sec. frekvenciával egyedül adták néhány "test" EPSP után.

Tehát a klasszikus kondicionálásra jellemző szigoru időbeliség nem szükséges a heteroszínaptikus facilitációhoz. A heteroszínaptikus facilitáció csak részlegesen specifikus a társítás időbeli viszonyaira / Kandel és Tauc 1965, Baumgarten 1970, Shimahara és Tauc 1976 /.

További vizsgálatok bebizonyították, hogy a regisztrált neuron akcióspotenciálgenerálása nem változtatja meg és nem szükséges a HF. kiépüléséhez. A posztszínaptikus membrán elektromos paraméterei nem változnak a folyamat eredményeként / Kandel és Tauc 1965, Wurtz és mtsai 1967, Shimahara és Tauc 1976 /.

A heteroszínaptikus facilitáció néhány perces vagy néhány-szor tizperces aktivitásváltozást eredményez.

Valószínű, hogy a heteroszínaptikus facilitáció puhatestűeken leirt és elemzett mechanizmusa, a heteroszínaptikus hatások egyik speciális evolúciós szintjét képviseli.

Nemcsak a preszinaptikus transzmitterfelszabadulás növekedése lehet a IIF. lehetséges magyarázata. Más, lehetséges mechanizmusokat részletesen fogok ismertetni a posztzinaptikus membránjelenségek tárgyalásánál.

Indokolt a heteroszínaptikus kölcsönhatások elemzését kiterjeszteni fejlettebb idegrendszerrel bíró élőlények asszociatív tanulási folyamatainak celluláris mechanizmusaira is.

A puhatestűeken leírt IIF. a valódi asszociatív tanulás számos jellemzőjét nem mutatja. Mind ezideig csupán egy közlemény jelent meg a puhatestűek lehetséges asszociatív tanulási mechanizmusairól. / Mpitso és Davis 1973 /. Mások ezt a lehetőséget elvetik / Kandel 1974, Kupfermann 1975 /.

További vizsgálatoknak kell ezért tisztázni az asszociatív tanulási folyamatok és a heteroszínaptikus facilitáció formai hasonlóságát és eltéréseit.

A heteroszínaptikus kapcsolatok lényegesen bonyolultabb feltételek és többféle feltevés alapján tárgyalhatók mint a homoszinaptikus hatások.

Ismeretes, hogy két posztzinaptikus potenciál térbeli és időbeli egybeesésekor kölcsönhatások lépnek fel. Azonban bármely bemenet egyedüli stimulációját ismételve, az változatlan reakcióhoz vezet a célsejt részéről és bármely bemenet ingerlésének elhagyása együttes ingerlés után változatlan reakciót tapasztalunk az egyes ingerlésre. Tartós funkcionális változás nem történik.

Hallgatólagosan feltételezzük, hogy az ingerlés nem túl

magas vagy nem túl alacsony frekvenciákon történik / tehát nincs homoszinaptikus frekvenciapotencirozódás és nincs habituáció sem/

Megváltozik a neuron viselkedése, ha egyik bemenetét olyan szinapszis működése jelenti, mely észrevehető változást okoz a sejt tüzelési mintázatában. Ez lehet ingerküszöböt elérő EPSP vagy IPSP / ha más szinaptikus bemenetek felől kiváltott akcióspotenciálokat megszüntet /. Másként fogalmazva, ha a neuron egyik bemenetét ingerküszöb alatti, megfelelő időben érkező impulzusok érik, akkor megváltozik a sejt válasza.

Bizonyos számú együttes ingerlés után az ingerküszöb alatti ingert egyedül alkalmazva az képesnek bizonyul tartósan módosítani a neuron tüzelési mintázatát.

A neuron ilyen típusai ingerületbe hozása formailag megfelel az asszociatív tanulási folyamatok idején megfigyelhető változásoknak.

Számos esetben kimutatták, hogy bármely típusu tanulási folyamatban az agyi elektromos tevékenység jellegzetes és jól reprodukálható változásokat mutat / Doty 1969, John 1974, Gray 1976 /.

A különböző tanulási mechanizmusok idején megfigyelhető extracelluláris egysejtaktivitást is részleteiben elemezték / Jasper 1960, Bures és Buresova 1967, Doty 1969, Fox és O'Brian 1969, Olds és mtsai 1972, John és mtsai 1974, O'Brian 1974, Voronin és mtsai 1969, 1976 /. Megfigyelték, hogy klasszikus kondicionálási procedurák

során jól reprodukálhatóan változott az egysejtaktivitás. A feltétlen ingernek például frekvens sejt-kisülés felelt meg, mely jelezte a biológiailag is erős hatásu ingerületet. Woody és mtsainak / 1973 /, Voronin és mtsainak / 1971, 1974 /, Skrebitskii és mtsainak / 1973 / intracelluláris és quasi-intracelluláris vizsgálatai megerősítették az extracelluláris módon nyert adatokat.

A kutatási eredmények szerint valóban szükséges, hogy az egyik szinaptikus bemenet ingerlése létrehozza a vizsgált neuronpopuláció vagy neuron akcióspotenciál generálását. Felmerül a kérdés, hogy heteroszínaptikus típusu kapcsolatok esetén mi okozza az ingerküszöb alatti szinaptikus bemenet hatékonyságának fokozódását, avagy miért növekszik az EPSP vagy IPSP, ha közben frekvens akcióspotenciálgenerálásra készítetjük a neuront?

Változatlan transzmitterfölszabadulást kell feltételeznünk, mert ugyanolyan frekvenciájú teszt impulzus társítás nélkül önmagában adva csak PSP-t hoz létre, míg ugyanolyan frekvenciával és akcióspotenciállal időben egyszerre adva megnövekedik, facilitálódott posztzinaptikus potenciálokhoz vezet. Fontos ilyenkor, hogy a feltételes és feltétlen ingerek / megfelelően PSP és akcióspotenciál / közötti időintervallum változatlan legyen / Gray 1976 /. A fentieket figyelembevéve elméletileg azt kell feltételeznünk, hogy heteroszínaptikus kölcsönhatásokban / melyek az asszociatív tanulási folyamatok celluláris analógjai / a posztzinaptikus membránon lejátszódó változások

hozzájárulhatnak a szinaptikus átvitel hatékonyságának változásaihoz. Továbbá, ellentétben a homoszinaptikus típusu facilitációkkal, a posztszinaptikus membrán integrációs folyamatai alacsony frekvenciákon is szelektív szinapszisaktivációt hozhatnak létre.

Hebb már 1949-ben feltételezte, hogy a pre és posztszinaptikus membránterületek kölcsönös és szinkron tüzelése szükséges a szinaptikus kapcsolat megerősödéséhez:

" When an axon of cell A is near enough to excite a cell B and repeatedly and persistently takes part in firing it, some growth or metabolic change takes place in one or both cells such that A's efficiency, as one of the cell firing B, is increased".

Elméleti posztulátumát számos esetben kiegészítették, továbbfejlesztették és próbálták bizonyítani / Marr 1970, Stent 1973, Gardner-Medwin 1969, 1976 /.

A sok erőfeszítés ellenére azonban nem tudunk sokkal többet a posztszinaptikus membrán szerepéről és közreműködéséről a tanulási folyamatokban.

A következők során röviden ismertetem azokat a kísérleti eredményeket, melyek szerint a posztszinaptikus membrán akcióspotenciál generálása valamilyen módon közreműködhet a szinaptikus hatékonyság megváltoztatásában.

B./ Változik a posztszinaptikus receptorok száma és érzékenysége.

1./ Lomo és Rosenthal / 1972 / kimutatták, hogy denervált izommembránon a posztszinaptikus receptorok nemcsak a szinaptikus régióban, hanem a membrán teljes felületén

előfordulnak.

Denervált izmot posztszinaptikusan ingerelve és ott akcióspotenciálokat kiváltva, a receptorok újra a posztszinaptikus régióra lokalizálódnak. A spontán transzmitter-fölszabadulás, mely miniatűr véglemezopotenciálokat hoz létre a posztszinaptikus membránon, nem elégséges a receptorok szétterjedésének megakadályozásához.

2./ Farel / 1974 / megfigyelte, hogy átmeneti hatásfoknövekedés lép fel izomvéglemezen, rövid tetanizálás után és a hatás több mint 2 óra hosszáig elhúzódhat. A jelenség egyik lehetséges okaként a posztszinaptikus membrán kémiai szenzitivitásának változását hozza fel.

3./ Vrbova és Wareham / 1976 / megfigyelték, hogy izomvéglemez tetanizálása után 2-4 órával / közben a véglemezt nem ingerelték / acetilkolinra és suxamethoniumra megnövekedett a receptorok érzékenysége.

A szenzitivitás növekedésének elektrofiziológiai jelle is volt, mert a miniatűr véglemezopotenciálok amplitudója mintegy 35 %-al nőtt.

C./ Változik a posztszinaptikus membrán valamelyik elektromos jellemzője.

1./ Bliss és mtsai / 1968 / izolált kórgen végzett kondicionálási kísérleteikben, statisztikai módszerekkel, extracelluláris kísérleti adatokból kiindulva a következőket figyelték meg. Ha X olyan neuronpopulációt ingerlünk mely impulzusokat szállít Y -neuronpopulációhoz, tehát $X \rightarrow Y$, akkor X vagy Y neuronpopulációkat tetanizál-

va különbségek mutatkoznak a 10-30 percig elhuzódó facilitált válaszban. A kondicionálódás időtartama negatív korrelációt mutat az X neuronpopuláció tüzelési frekvenciájának és az X valamint Y neuronpopulációk tüzelési arányainak változásaival. Pozitív korrelációt mutat az Y populációhoz tartozó neuronok tüzelési gyakoriságával.

A szerzők kísérleteikből azt a következtetést vonják le, hogy nem az egyes szinapszisok hatékonysága növekszik, hanem a két neuronpopulációt összekötő kapcsolatok száma.

2./ Porter / 1970 / gerincvelői mozgatósejtekből vezetett el, intracellulárisan olyan EPSP választ, melyet motoros kérgi ingerléssel váltott ki. A tetanizálást 100-200/sec. frekvenciánál végezve azt tapasztalta a nagymértékű potencirozódás mellett, hogy nincs egyértelmű összefüggés a kondicionálás időtartama és a potencirozódás mértéke között. Ez ellentétes a posztetanus potencirozódás egyik jellemzőjével. Ezért Porter nem zárja ki poszt-szinaptikus folyamatok lehetőségét a potencirozódásban.

3./ Lomo / 1971 / majd Bliss és Lomo / 1973 / hippocampus granulasejtek monoszínaptikus, dendritikus EPSP-it kondicionálták 10-15 cps ortodrom, néhány másodpercig tartó stimulációval.

Ismételt kondicionálások esetén hosszantartó effektusokat sikerült létrehozni. Eredményeiket in vitro, izolált hippocampus szeleteken is sikerült megismételni / Dudek és mtsai 1976 /.

A szerzők poszt-szinaptikusnak tartják a potencirozódás he-

lyét és a jelentékeny plaszticitást, mivel nem változik a preszinaptikus spikenak megfelelő extracelluláris potenciál egyik paramétere sem / Eccles 1964, Lomo 1971 /.

A granulasejtek antidrom kondicionálása ugyanakkor nem befolyásolja a potencirozódást.

4./ Voronin és mtsai / 1971, 1974, 1976 / szerteágazó kísérletsorozatukban a kérgi posztetanus potencirozódást, ritmusátvételt, valamint kondicionált celluláris válaszokat vizsgáltak extracelluláris és quasi-intracelluláris technikával. A posztszinaptikus válaszokat "feltételes" válasznak tekintették, melyeket azonos oldali thalamus, ellenoldali kérgi pont vagy direkt kéregfelszíni stimulációval váltottak ki. "Feltétlen" ingerként olyan stimulációt alkalmaztak, mely a vizsgált neuronban akcióspotenciálokat váltott ki. Ez történt direkt kérgi ingerléssel, a neuron mikroelektrodon keresztül történő direkt ingerlésével, továbbá a laterális hipothalamus ingerlésével.

Kísérletsorozatukban megvizsgálták az időbeliségre nem specifikus / "priming" típusu / kondicionálás és a klasszikus kondicionálás / időbeliségre specifikus / közötti hasonlóságokat és eltéréseket. A facilitálódás időtartamát tekintve nem találtak lényeges különbségeket.

Eredményeiket összegezve Voronin is felveti a posztszinaptikus membrán szerepét a szinaptikus hatékonyság növekedésében. Azonban a specifikus és nem specifikus megerősítések hatása is egyaránt néhány másodpercig vagy néhányszor tíz másodpercig tart. Voronin a hatásokat poli-

szinaptikus hálózatban létrejött kérgi posztetani-
kus potencirozódásnak és különféle reverberációs kö-
rök szerveződésének tulajdonitja.

5./ Skrebitskii és mtsai / 1973 / nyul agykérgi neuro-
nokból történő quasi-intracelluláris elvezetésckben a
neuron direkt ingerlését alkalmazták kondicionáló in-
gerként. Szomatoszenzoros kérgi neuronokon a VPL in-
gerléssel kiváltott posztszinaptikus potenciálok fa-
cilitálódtak, ha a klasszikus kondicionálás szabályai
szerint társították azokat intracelluláris depolarizá-
cióval. A vizsgált neuronoknak mintegy 10 %-a mutatott
néhányszor tiz másodpercig elhuzódó facilitálódást.

További megerősítést nem adva a válasz kialudt. A szer-
zők szerint a sejtmembrán nem specifikus szenzitizálódá-
sa lehet a jelenség oka.

6./ Stephens / 1973 / intracelluláris alacsonyfrekven-
ciájú direkt ingerléssel / 0,1/sec./ Aplysia R₂-óriás-
sejteken azt tapasztalta, hogy a depolarizáció négyszög-
impulzusokkal kiváltott akcióspotenciál generálás foko-
zatosan gyengül az ingerlés során. Ez a technika a neu-
ron membránjának szinaptikus aktiváció nélküli 'válasz-
készségét tesztelte.

A válaszcsökkenés időviszonyai hasonlítanak a habituá-
cióra, melyet ugyanazon rendszeren szinaptikus bemenetek
ingerlősekor figyelték meg / Pinsker és Kandel 1972,
Kandel 1974, Kupfermann 1975 /, és komplett visszatérést,
diszhabituációt, stb. mutat. Antidrom spiko hasonló frek-

venciával történő kiváltása ugyanezt a hatást eredményezi. A neuron nyugalmi membránpotenciálja és a membránkonduktancia nem változik. A stimulusok között egy esetben alkalmazott 4 másodpercig tartó hiperpolarizáció azonban a habituációt megszünteti.

Stephens szerint a habituáció mechanizmusa ebben az esetben progresszív Na-inaktiváció. A hiperpolarizálás a Na-inaktiváció megszüntetése miatt hoz létre habituációt. Szintén ezzel kapcsolatos, hogy a szenzoros sejt hiperpolarizációja idején létrehozott heteroszínaptikus stimuláció diszhabituálódáshoz és hatalmas akcióspotenciálokhoz vezet / Kandel 1974 /.

7./ Puztai és Ádám / 1974 / Helix óriásneuronokat kondicionáltak a klasszikus kondicionálás módszerei alapján. Megerősítésként intracelluláris stimulációt, míg test impulzusként valamelyik ideg felől kiváltott PSP-t alkalmaztak. Néhány másodpercig vagy percig tartó plasztikus hatásokat tapasztaltak.

Eredményeiket a posztzinaptikus membrán short-term szummációs típusú változásainak tartják.

Hiperpolarizációt is tudtak kondicionálni.

8./ Weiss és Kupfermann / 1976 / megfigyelték, hogy Aplysia metacerebrális ganglionjának serotoninerg óriásneuronjaiban a heteroszínaptikus facilitáció más mechanizmus alapján is történhet, mint amit Kandel és Tauc először leírtak.

Kondicionáló ingerlés után a sejt kifejezett, hosszan-

tartó depolarizációt és anomális rektifikációt mutat, s ezzel párhuzamosan változik a PSP facilitáció időtartama. A facilitációt nagyon rövid ideig tartó iniciális depresszió előzi meg.

9./ Woody és mtsai / 1973, 1976 / különösen fontos eredményeket közöltek. Kísérletsorozatukban macska motoroskérgi idegsejtek intracelluláris és quasi-intracelluláris sejtaktivitását elemezték klasszikus kondicionálási eljárások alkalmazása során.

Első lépésként motoroskérgi neuronokat fiziológiailag i-
dentifikáltak. A mikroelektrodon keresztül alkalmazott mikrostimuláció segítségével neuronokat választottak ki, mint a perifériára vetülő, valamely mozgató idegághoz tartozó centrális elemeket.

Kondicionált macskákön a válasz kiépítése után változást lehetett megfigyelni olyan sejtek számában és ingerküszöbében, melyek azelőtt a feltételes ingerre mutattak aktivitást.

A glabella könnyű megütése volt a feltétlen inger, melyre az állat szemrebbenéssel válaszolt. Feltételes ingerként hangot használtak.

Kondicionálatlan egyedek esetében körülbelül egyenlő számú, orrizmot vagy szemizmot beidegző neuron válaszolt hangingerre és intracelluláris áraminjekcióval ingerküszöbüket meghatározva a két csoport nem mutatott szignifikáns különbséget.

Kondicionálás után relative több, a szemizmot beidegző neuron válaszolt hangingerre, mint orrizmot beidegző sejt. Ha intracelluláris négyszögimpulzusokkal az inger-

küszöböt megmérték, az csökkent a szemizmokat beidegző neuronokban az orrizmokat beidegzőkhöz képest. A kísérletes úton kiépített, kondicionált reakciókban / szemrebbenés hangingerre / nőtt a specifikus válaszban szereplő neuronok száma és csökkent az ingerküszöbük.

A szerzők ezt egyértelműen a posztszinaptikus membránon lejátszódó változások eredményének tekintik / Woody 1973 /.

Biofizikai módszerekkel, kísérleti eredményeink alapján neuronmodellt szerkesztettek, ahol posztszinaptikus áramfolyásokat tételeznek föl a sejten belül, mely a szoma fölül a távolabbi és periférikus dendritágak felé történik.

A szerzők szerint az akcióspotenciál kapcsán fellépő centrifugális áramoknak szerepük van a fentebb leírt, kondicionált reakció kiépülésében.

A teljesség igénye miatt megemlítem, hogy Shimbel már 1950-ben feltételezte a neuronális membrán ingerküszöb változásait a kondicionált reakció létrejöttében: " the threshold of the neurone is lowered more or less permanently if the super-threshold and sub-threshold impulses impinge upon it in a sufficiently close temporal contiguity, and hence the CS line becomes an adequate stimulus ".

Az előzőekben felsorolt kísérleti eredmények összefoglalásaként elmondhatjuk, hogy sokféle idegi struktúrában, különböző plaszticitási folyamatok kiépülésekor

megjelenésekor, a posztszinaptikus membrán változásai jelentékeny szerepet játszhatnak a szinaptikus működés hatékonyságának változásaiban és a folyamat kapcsán a célneuron posztszinaptikus membránjának bizonyos elektromos paraméterei is változnak.

D./ A posztszinaptikus membránból kilépő anyagok megváltoztatják a preszinaptikus aktivitást.

Fejlődéstani kísérletekből ismeretes, hogy a célsejtek meghatározó szerepet töltenek be a szinapszisok szerveződésében.

Kézenfekvőnek látszik annak feltételezése, hogy a tanulási folyamatokban is szerepet játszhatnak a hasonló mechanizmusok. Konkrét plaszticitási mechanizmusok kiépülésekor ennek a feltételezésnek még nem sikerült egyértelmű kísérletes bizonyítékát megtalálni / Szilárd 1964, Hubel és Wiesel 1965, Baumgarten 1970, Changeux és Dauchin 1976 /.

E./ A receptorok és ioncsatornák közötti kapcsolat hatásfoka változik.

Ujabb vizsgálatok alapján feltételezik, hogy a membrán elektrogén ionmechanizmusában szerepet játszó pórus fehérjék és a velük kapcsolatos más membránalkotók konformáció változást szenvednek a membrán felületén és belsejében lokalizált töltések / dipólusok / változásai következtében / Armstrong és Bezanilla 1974, Hille 1976 /.

Konkrét plaszticitási mechanizmusok esetében még nincs arra vonatkozó konkrét kísérleti megfigyelés, mely sze-

rint a posztszinaptikus membrán lokális elektromos változásaiban / posztszinaptikus potenciál / bekövetkezett hatékonyságnövekedés és az ioncsatornák membránalkotói közötti kapcsolat valamilyen fentebb leírt mechanizmus szerint összefüggene egymással. Mégis ez a legvalószínűbbnek látszó posztszinaptikus mechanizmus, melynek szerepe lehet a lokális PSP-k és az akcióspotenciálok között funkcióváltozás előidézésében.

További intenzív kutatások folynak ezen a területen / Hille 1976 /.

A szinaptikus hatékonyság megváltozásainak lehetséges okait és azok kísérleti bizonyítékait röviden áttekintve látható, hogy az agykérgi plaszticitás mechanizmusai a téma indokoltságához képest nagyon kevésbé ismertek.

A celluláris mechanizmusok pontosabb ismeretét az intracelluláris elvezetési technika metodikai nehézségei indokolják.

Az agykéregre vonatkozó intracelluláris vizsgálatok plaszticitással kapcsolatos eredményeit már említettük az egyes fejezeteknél és ezek a kérgi intracelluláris szakirodalom viszonylag kis részeit alkotják. A plaszticitásra vonatkozó és elemi elektrofiziológiai leírásokra szorító megbízható mikroelektrofiziológiai vizsgálatok főleg a látókéregre / Morrel 1967 / és az asszociációs területekre / Kornhuber és Jung 1961, Kornhuber és Da Fonesca 1961, Skrebtskii 1971 / vonatkoznak.

Mozgatókérgen, mint fentebb már leírtam, főleg Woody és mtsai 1973, Voronin és mtsai 1969, 1971, 1974, 1976, Skrebtskii és mtsai 1973, végeztek vizsgálatokat.

Vizsgálataik nagy részében quasi-intracelluláris és extracelluláris elvezetésekkel végeztek, így valódi intracelluláris elemzésekre feltétlenül szükség van ezen a területen.

A mozgatókéreg viszonylag nagyméretű idegsejtjei / Betz-féle sejtek / kedvező lehetőséget nyújtanak a mikroelektródás elvezetésekhez.

A motoros kéreg fő efferens elemeiként leírt piramis sejtek bizonyítottan polimodális bemenetekkel is rendelkeznek, ezért a mozgatókéreg asszociációs területnek is tekinthető.

A mozgatókéregi neuronok bonyolult és differenciált dendritfája magas fokon szerveződött neuronális integrációra utal. / Colonnier 1969, Eccles 1972, Szentágotthai 1975 /.

A piramis sejtek vagy más néven PT-neuronok alkotják a fő efferens elemeket. Axonjaik köteget formálva az akaratlagos mozgatópályát / tr. corticospinalis / képezik. Így a PT-sejtek a gerincvelő felől antidróm ingerelhetők / Phillips 1956, Jabbur és Towe 1961, Patton és mtsai 1963, Stefanis és Jasper 1964, Humphry 1968 /. A piramis sejtek axonjai másrészt elágazódnak és visszakanyarodnak a motoros kéregbe, ahol az ugynevezett recurrens kollaterálisokat hozzák létre / Asanuma és Brooks 1965, Armstrong 1965, Takahashi és mtsai 1967, Humphry 1968 /.

A motoros kéregi piramis sejtek és internuronok / melyek axonjai intrakortikálisan végződnek / szinaptikus bemeneteket kapnak a megfelelő specifikus thalamus magból / n. ventrolateralis./ és a subcortex egyéb részeiről.

A piramis sejtek morfológiai és elektrofiziológiai sajátosságuk alapján két populációt alkotnak. Egyik csoportba a 20 m/

sec-nál kisebb vezetési sebességű un. lassu PT-sejtek, míg a másik csoportba a 20 m/sec-nál nagyobb vezetési sebességű, nagyméretű gyors PT-neuronok tartoznak.

A lassu PT-sejtek monoszinaptikus EPSP-eket hoznak létre a gyors PT-sejtekben ha antidrom ingerlést végzünk / Takahashi 1965, Armstrong 1965, Takahashi, Kubota és Uno 1967, Ito, Obata és Oshima 1968, Humphry 1968, Arikuni és Ochs 1973 /.

A gerinctelen modellrendszerekkel szemben a motoros kérgi szinaptikus bemenetek sokszor egyértelműbben megítélhetők a lokalizáció szempontjából / pl: szómán elhelyezkedő vagy távoli, dendritikus eredetű szinapszisok esetén /, másrészt egyértelműen ingerelhetők antidrom vagy ortodrom módon.

A szelektív stimuláció lehetőséget nyújt a funkcionális összetettség olyan redukciójára, mely a vizsgálni kívánt jelenséget még létrehozza. Másrészt olyan rendszerizolációt lehet megvalósítani, melynek bemenetei, integrációs folyamatai és kimenetei részben ismertek vagy megfigyelhetők.

Intracelluláris vizsgálatok során arra törekedtem, hogy szelektív stimulációs és elvezetési módokat választva, megbízható intracelluláris mérési adatokból kiindulva a mozgatókéreg plaszticitási folyamataira vonatkozó extracelluláris és quasi-intracelluláris mérési adatait összekapcsoljam elemi elektrofiziológiai jellemzőkkel. A mozgatókérgi intracelluláris mechanizmusokat összekapcsolva a heteroszinaptikus bemenetek ingerlésével, további adatokat kívántam szolgáltatni az előzőekben már említett

homoszínaptikus és heteroszínaptikus jelenségek magyarázatához. Különös tekintettel elemeztük a posztszínaptikus membrán integrációs folyamatait, a gátló és serkentő posztszínaptikus potenciálok plaszticitásának eltérő szerepét a mozgatókérgi neuronhálózatban.

Szándékoztunk megvizsgálni a posztszínaptikus membrán változásait és a heteroszínaptikus effektusokat elemi plaszticitási folyamatokkal összevetve, lehetőség szerint különbségeket tenni a pre és posztszínaptikus hatások között.

Munkahipotézisként feltételeztük, hogy a célneuron akcióspotenciál generálása meghatározó jelentőségű a heteroszínaptikus eredetű facilitálódásokban.

Hipotézisünk igazolására a következő kísérleti elrendezéseket terveztük:

1./ Ortodróm színaptikus bemenetek homoszínaptikus, különböző erősségű és frekvenciájú ingerlésre, mely főleg összehasonlítási alapként / kontroll / szolgált a kondicionálási kísérletekhez.

Ingerlés a n. ventrolaterális és a tr. corticospinalis felől történt.

2./ A n. ventrolaterális ingerlésével kiváltott posztszínaptikus potenciálok / 0,5-1 cps frekvenciájú teszt impulzusok / kondicionálása frekvens antidróm spikesorozattal / 10-30 cps /.

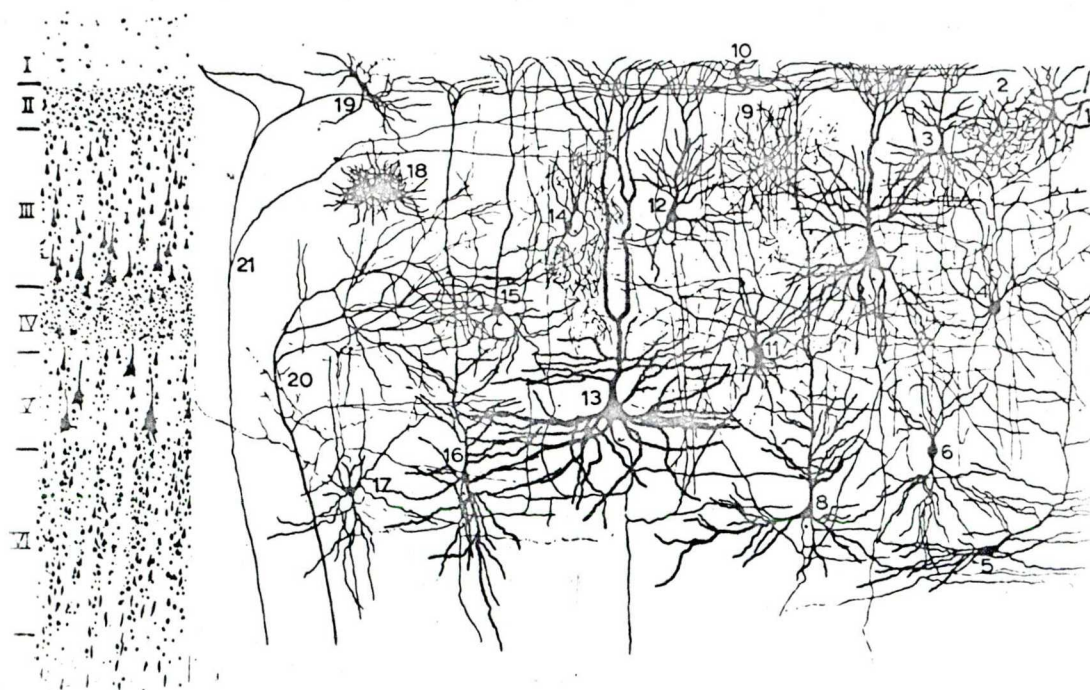
Ez lényegében az időbeliségre nem specifikus, ún. "priming" típusú kondicionálás mely követte a teszt-impulzusokat.

3./ A n. ventrolateralis felől és a piramispálya felől szinaptikusan aktiválható neuronok / interneuronok / heteroszinaptikus kondicionálása " priming " típusu ingerléssel. Teszt impulzus a thalamus ingerlésével kiváltva.

4./ Interneuronok és PT neuronok thalamus felől kiváltható posztszinaptikus potenciáljainak társítása a piramispálya ingerlésére kiváltódott szinaptikus és antidróm akcióspotenciálokkal.

5./ PT-neuronok és interneuronok kiváltott posztszinaptikus potenciáljainak kondicionálása intracelluláris direkt ingerléssel.

A nem PT neuronok VL felől kiváltott posztszinaptikus potenciáljainak időben kontingens és " priming " típusu kondicionálása szinaptikus akcióspotenciálokkal, heteroszinaptikus hatások tanulmányozását jelenti mozgatókérgi neuronokon.



2. ábra: A mozgató kéreg fő afferens és efferens elemei. A bal oldali képen láthatók a cytoarchitektonikai rétegek. A jobboldali képen Golgi készítmények alapján készült rajz ábrázolja a fő sejtes elemeket: a hosszú axonnal rendelkező piramissejteket és fusiform neuronokat / 1.3.5.7.8. 12.13.15.16 / valamint a rövid axonú csillagsejteket. A nonspecifikus afferensek és az asszociatív összeköttetések a kéreg felszínes rétegeiben végződnek /21/, míg a specifikus afferensek a 3-4 rétegben."

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérletsorozatot 42 fejlett, 2-4 kg súlyu macskán végeztem. A súlyosabb és idősebb állatok nagyobb fiziológiai állóképességgel rendelkeztek, mégis sok esetben célszerűbbnek látszott fiatal egyedeket fölhasználni, mert a vékonyabb és kevésbé kemény pia materen sikeresebben lehetett az üvegmikroelektrodokat átvezetni.

a./ Anesztézia. A kísérletek kezdetén 40 mg/kg pentobarbital-natriumot / Pe-Na / intraperitoneálisan alkalmaztam, mely a preparálás idején közepesen mély narkózist biztosított / 1-2 mm pupillaszélesség, mozgásmentesség/. A kísérletek túlnyomó részében további 10-15 mg Pe-Na intravénás beadására is sor került, mintegy 2-3 óránként és így a narkózis egyenletes szintjét biztosítani tudtam.

9 esetben a kezdeti Pe-Na után a nyomási és vágási felületeket 1 %-os Procain oldattal infiltráltam majd 4-6 mg/kg iv. Flaxedil segítségével bénított állatot mesterségesen lélegeztettem. Ezen utóbbi esetben az agykéreg elektromos tövékenysége, 8-10 órával az iniciális Pe-Na beadása után, hasonló az éber állat elektrokortikogramjához / oltűnnek a "barbiturát-orsók" /. Kísérleti tapasztalataim szerint a műtétek befejezése után mintegy 6 óra múlva kezdődik az a kísérleti periódus, melyben intracelluláris elvezetések legnagyobb eséllyel végezhetünk. Néhány esetben 24-28 órás preparátumból is történt elvezetés.

b./ A kísérleti állat műtéti előkészítése intracelluláris elvezetéshez. A narkózis beállta után a v. femoralisba és a tracheába kanült kötöttem. Ezek után a hátára fordí-

tottam az állatot és a gégefő, izmok és kötőszövetek félretolásával feltártam a koponyaualapot. Az os basioccipitale-n fogászati furóval néhány mm²-es nyílást készítettem és a dura mater eltávolítása után előtűnt a középvonal két oldalán mintegy 1 mm vastag fehér köteggként a tractus corticospinalis.

A baloldali piramispályák felszínére ingerlőelektródokat helyeztem és azokat paraffinnal rögzítettem a koponyaualaphoz. Az elektródok kivezetéseit hozzávarrtam a bőrszéléhez és 3 öltéssel összeerősítettem a mintegy 7-8 cm hosszú metszésvonalat.

Ezek után hasára fordítottam a kísérleti állatot és fejét rögzítettem a Kovách-féle stereotaxiás készülékben. A koponyát fedő bőr, izmok és kötőszövetek félretolása után fogászati furóval eltávolítottam a szemgödör fölötti mintegy 2 cm² nagyságú csontfelületet és feltártam a baloldali motoros kérget. Az 1. ábrán látható a baloldali motoros kéreg szomatotópiás lokalizációja. A dura mater eltávolítása után paraffinolajjal borítottam a kéregfelszint a kiszáradás megelőzésére.

A motoros kéreg feltárása után stereotaxiás módszerrel bipoláris ingerlőelektródot helyeztem a VL-be, melynek koordinátái a Jasper-Ajmoné Marsan atlasz / 1954 / szerint F:11, L:4, V:1,5.

A kéregfelszín pulzatórikus és repiratorikus mozgásainak problémája az emlős neocortex intracelluláris vizsgálatainak egyik döntő és limitáló tényezője.

A kérgi pulzációt nagymértékben csökkenteni lehet a következő módszerekkel:

a./ a liquor levezetése

b./ a test helyzetének változtatása és "félig" függő helyzetbe hozása a fejhez képest.

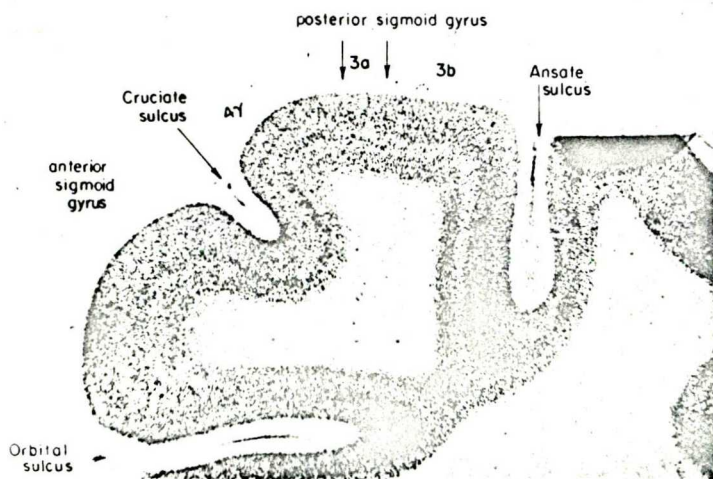
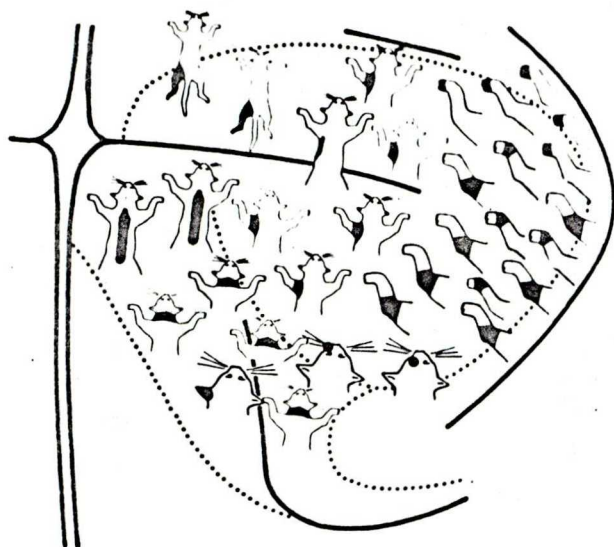
c./ nyomótalp finom illesztése a kéreg felszínéhez, melynek közepén 1-2 cm centrális pórus van a mikroelektród bevezetésére. Fontos ilyenkor a kéregfelszín állapotának ellenőrzése, és a pia materben futó erek sérülésének megelőzése.

d./ bilaterális pneumothorax és mesterséges lélegeztetés.

Kísérlet közben 2 óránként 5-10 ml 10 %-os glükóz-tartalmu fiziológiás sóoldatot adtam intravénásan és hő-sugárzó segítségével az állat testhőmérsékletét 38-39 °C-on tartottam.

c./ Intracelluláris elvezetés és ingerlés, ECoG, kiváltott potenciálok. Intracelluláris elvezetésre 2,5 M KCl-al vagy 1,6 M K-citráttal megtöltött üveg mikroelektródokat használtam. Az elektródok hegyének állapotát fénymikroszkóppal ellenőriztük és azok 0,4 μ -nál vékonyabbak voltak. A mikroelektródok megtöltése az un. methanolos-vákuumos főzéssel történt. Az elektródok buborékmentesen megtöltődtek methanollal, majd desztillált vizes fürdő után 2,5 M KCl oldatba lettek helyezve. Elvezetésre olyan elektródokat választottunk ki, melyek ellenállása 10-50 $M\Omega$ közötti értéket mutatott 2,5 M KCl oldatba mérve. Rendszerint a megtöltés utáni 3. napon vették föl az elektródok a fenti értéket.

A mikroelektród Ag-AgCl nem polárhozó elektródhuzal segítségével kapcsolódott a MIKI. 1623/B típusu lx-es erősítésű DC-előerősítőhöz és annak közvetítésével egy MIKI 1623 típusu főerősítő egyik bemenetére.



3. ábra. A motoros kéreg szomatotópiás elrendeződése /1/a/. Az ábrán pontozott területek mutatják a n. ventrolateriális aktiválható kéregrészt. Mind az antidróm válaszok, mind a VL. kiváltott potenciálok szomatotópiás elrendeződést mutatnak, azonban a PT-sejtek sűrűsége nagyobb a s. cruciatus anterioron /1/b/. /Nicoullon és Rispal-Padel 1976, Towe és mtsai 1976 /.

A DC-előerősítő bemenetére a mikroelektróda egy Wheatstone-hidáramkör részeként csatlakozott, így lehetőség nyílt a neuron sejtmembránjának direkt elektromos ingerlésére. A hidáramkörbe csatlakozott egy négyszögingerlő mellyel tet-

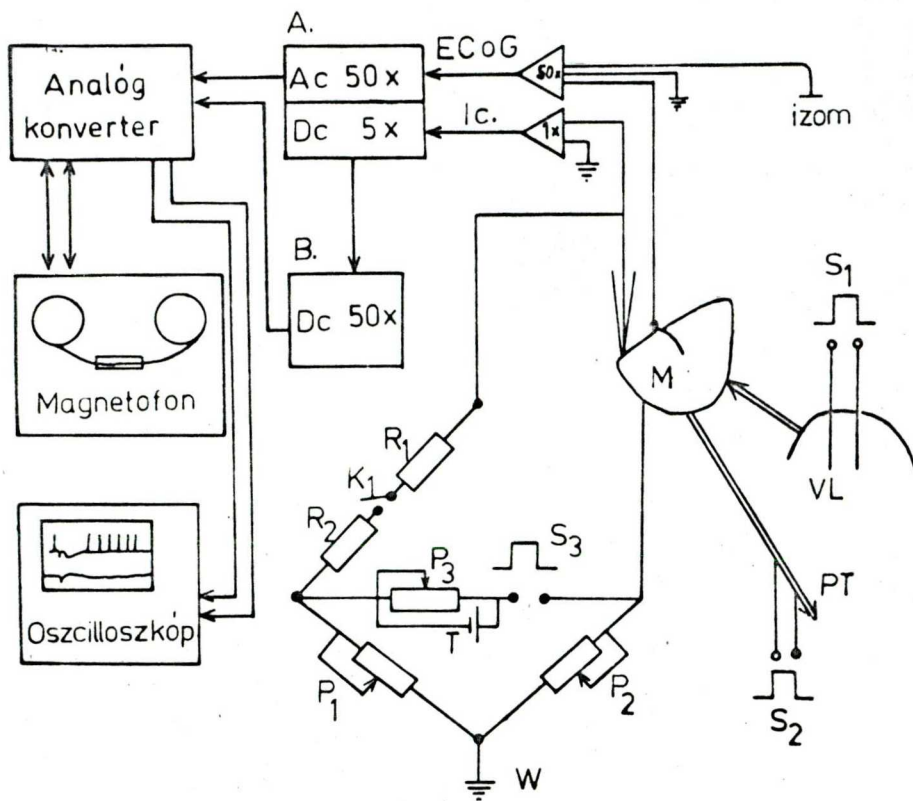
szöleges paraméterű négyszögimpulzusokat tudtam a mérőrendszerbe bevinni / 4. ábra /.

A köregfelszín field-potenciáljait ezüst gömelktróddal vezettem el egy 1623/A típusu 50x-es AC előerősítőn keresztül a MIKI főerősítő másik bemenetére. A főerősítő kimenetéről az ECoG. mintegy 2500x-os végerősítés után egy analóg konverter bemenetéhez csatlakozott.

A főerősítő másik kimenete egy további DC-erősítőn keresztül mintegy 200x-os végerősítés után jutott az analóg konverter másik bemenetére. A konverter 10 KHz. vivőfrekvenciával, 10 Ohm kimeneti impedanciával rendelkezett. A konverter kimenetéhez csatlakozott egy kétcsatornás Tesla magnetofon, melyen 19 cm/sec szalagssebességgel 52 db jel/zaj viszony mellett a regisztrátumokat magnószalagon rögzítettük.

A konverterhez csatlakozott egy Tektronix gyártmányú tároló osszcilloszkóp, mely a kísérlet közbeni közvetlen megfigyelést szolgálta.

Mint a fentebb leírtakból is kitűnt, az egyes motoros kérgi idegsejtek legfeljebb három irányból voltak ingerelhetők. Antidróóm módon lehetett ingerelni a tr. corticospinalis felől azokat a sejteket, melyek axonjai ebben a pályában haladnak / piramissejtek vagy más néven PT-sejtek/. Bizonyos piramissejtek esetében a VL felől is lehetett antidróóm ingerlést végezni, mely jelzi hogy a PT-sejtek axonjainak van végződése a n. ventrolateralisban, hasonlóan más "specifikus" thalamusmaghoz. Azonban VL ingerlésre ortodróóm válasz jellemző.



4. ábra. A kísérleti elrendezés sémás ábrázolása. A motoros kéreg / M / neuronjait ingerelni lehetett az S_1, S_2 és a mikroelektrodon keresztül S_3 négyszögingerlők segítségével. Az AC = 50x-es és DC = 1x-es előerősítőkön keresztül a bioelektromos jelek tovább erősödnek az A. főerősítőben és B. DC-erősítőben, majd befutnak az analóg konverterbe. Innen a magnetofonba és az oszcilloszkópba jutnak a jelek. A Wheatstone-híd / W. / lehetővé tette a membránpotenciál direkt megváltoztatását és a sejt közvetlen ingerlését. A híd elemek paraméterei: $R_1=4,7 \text{ M}\Omega$, $R_2=470 \text{ M}\Omega$, K_1 =kapcsoló, $P_1=1 \text{ k}\Omega$, $P_2=150 \Omega$, $P_3=4,7 \text{ k}\Omega$, T=telep /9V/. VL=n. ventrolateralis. PT=tr. corticospinalis.



Azokat az idegsejteket, melyek sem a piramispálya sem a VL felől antidróm nem ingerelhetők, interneuronoknak / nem PT-sejtek / nevezzük.

Antidróm spikonak fogadtuk el azokat az akcióspotenciálokat, melyek 100/sec ingerlési frekvencia mellett is megjelennek, rövid állandó latenciát mutattak és praepotenciál nélkül emelkedtek ki a regisztrálási alapvonalból. Nem mutattak potencirozódást vagy depressziót a fenti ingerlési frekvenciánál kisebb értékeken / ellentétben a szinaptikus uton kiváltott akcióspotenciálokkal /.

A piramispálya ingerlése 1-5 V, 0,05-0,2 msec jeltartamu, míg a VL ingerlése 5-15 V, 0,2 msec jeltartamu négyszögimpulzusokkal történt. Továbbá minden neuron ingerelhető volt az intracelluláris mikroelektródon keresztül.

Az egyes idegsejtek kondicionálása különböző paraméterű ingerekkel történt, mivel nem ismeretesek az optimális ingerlés feltételei.

Az ingerlés jellemző adatait ismertetni fogom az egyes neurontípusok esetében.

d./ A kísérleti eredmények kiértékelése, regisztrálása.

A magnószalagról visszajátszott felvételeket részben a tároló osszcilloszkóp segítségével, részben filmrevéve értékeltem ki.

Ahol szükségesnek látszott, szignifikancia számolást végeztem a Student-teszt alapján.

EREDMÉNYEK

A VL EPSP-k PLASZTICITÁSÁNAK VIZSGÁLATA MOZGATÓKÉRGYI NEURONOKON.

A kísérleti anyagból 78 olyan neuront választottam ki, melyek VL ingerlésre valamilyen formában EPSP-vel válaszolnak. Ezek közül 65 sejtet regisztráltunk intracelluláris elvezetésben 50-75 mV közötti stabil membránpotenciál és 40-100 mV közötti akcióspotenciálértékek mellett.

További 13 neuronból quasi-intracelluláris elvezetés történt 20-40 mV membránpotenciál és 10-30 mV akcióspotenciál értékekkel. A regisztrálás időtartama néhány perc és 2-3 óra között változott. Leggyakoribb és már kondicionálásra is módot adó időtartam 15-30 perc volt / 27 neuron /.

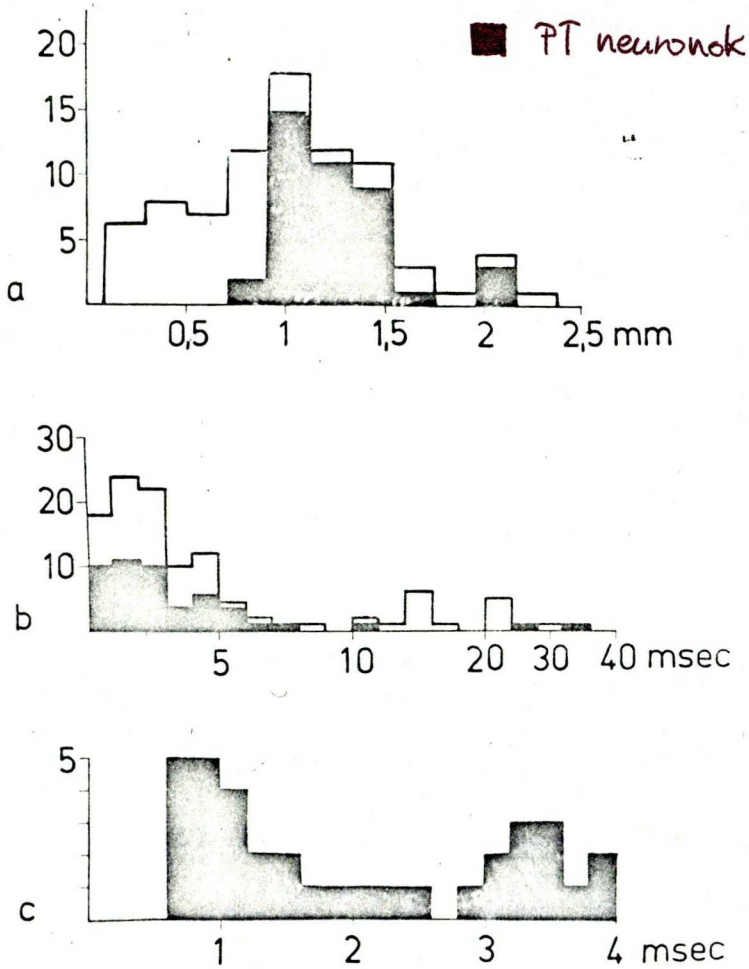
A gerincevelői piramispálya ingerlése 78 neuron közül 35 sejtben antidróm akcióspotenciált váltott ki, melyek latenciaideje 0,6-4 msec közötti értékeket mutatott. A kiválasztott PT neuronok az antidróm válasz latenciaideje és egyéb biofizikai paramétereik alapján / Takahashi 1965, Koike és mtsai 1968 a,b, Oshima 1969, Koike és mtsai 1970, 1972 / egyértelműen két populációt alkottak.

22 gyors PT neuront / antidróm válasz latencia 2,5 msec és 13 lassu PT neuront / antidróm válasz latencia 2,5 msec/ lehetett elkülöníteni / 5/a ábra /.

6 gyors PT neuronban az antidróm spike-ot átlagosan 3,2 msec latenciaidejű, 4-9 mV amplitudójú és 20-50 msec hosszúságú EPSP követte.

44 neuron a piramispálya vagy VL ingerlésre egyaránt szinaptikus válaszokat mutatott. Ezek közül 29 neuron csak

VL ingerléssel míg 15 neuron PT és VL ingerléssel egyaránt aktiválhatónak bizonyult / 5/b ábra /. Az interneuronok vagy másként nem PT neuronok a kéreg teljes mélységében előfordultak, míg a PT sejtek 0,9-1,5 mm mélységben leggyakoribbak / 5/c ábra /.



5. ábra : VL ingerlésre EPSP-vel válaszoló neuronok jellemzői:

- a./ PT neuronok antidróm válasz latenciaidő eloszlása
- b./ VL EPSP-k latenciaidő eloszlása
- c./ A neuronok eloszlása a kéreg mélységében.

Mint a Bovezetés c. fejezetben leirtuk, célszerűnek látszott a VL ingerléssel kiváltott posztszinaptikus potenciálokot teszt impulzusként kezelni, mivel a mozgatókéreg szinaptikus bemenetei közül a legeggyértelműbb paraméterekkel jellemezhető szinaptikus hatásokat képviselik. Kísérleteink során gradálható, plasztikus válaszokat elemeztünk, ezért szükséges volt néhány esetben megvizsgálni, hogy a VL ingerlés erősségének és frekvenciájának változása mennyiben befolyásolja a VL ingerléssel kiváltott intracelluláris posztszinaptikus potenciálok jellemzőit.

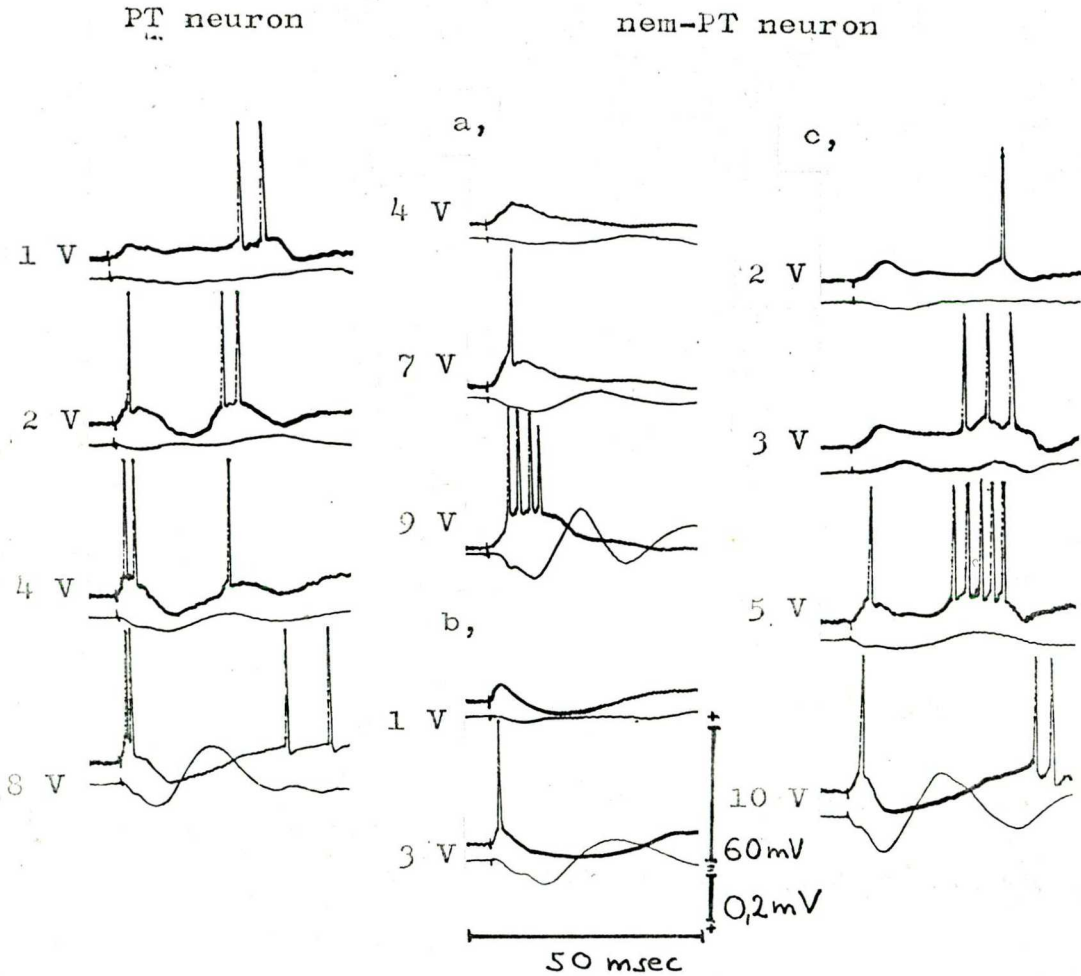
1./ A VL ingerlés paramétereinek hatása a VL EPSP-re.

Megelőző vizsgálatokból ismeretes, hogy VL ingerlésre komplex és maszkírozott posztszinaptikus válaszok jöhetnek létre mozgatókérgi neuronokban. Az egyes komponensek latenciaideje, nagysága függ az ingerlés erősségétől és frekvenciájától valamint jellegzetes korrelációt mutat a kéregfelszíni kiváltott térpotenciálokkal / Li 1963, Klee és Offenloch 1964, Lux és mtsai 1964, Nacimiento és mtsai 1964, Purpura és mtsai 1964 a, b, Creutzfeldt és mtsai 1966 a, b, Grossman és mtsai 1967, Araki és mtsai 1976 a, b, /.

Saját kísérleteink alapján, röviden ezt a következőkben mutatjuk be. / 6. ábra /.

PT neuronokban gyenge VL ingerlésre / 1-2 V, 0,1-0,2 msec/ rendszerint hármass EPSP-ből álló válasz alakul ki és a harmadlagos EPSP komponensből 20-40 msec közötti latenciával akcióspotenciálok keletkeznek. Az ingerlés erősségét növelve, egyre rövidebb letenciaidejű akcióspotenciálok jelennek meg / 6. ábra PT neuron /. Szupramaximális VL in-

gerlésre az elsődleges, 0,8-3 msec latenciaidejű EPSP-t IPSP követi, mely rendszerint elfedi a későbbi EPSP válaszokat.



6. ábra: PT és nem PT neuronok posztszinaptikus válaszai 1 cps frekvenciájú, 0,2 msec jeltartamú, különböző erősségű VL ingerlésre. Az ingerlés erőssége az ábrák bal oldalán feltüntetett feszültségértékekkel történt. Minden regisztrátum felső része az intracelluláris felvétel és alsó része az ECoG.

A nem PT sejtek válaszai 3 fő típusba sorolhatók / 6. ábra nem PT neuronok /.

Az a. típusu sejtekben szupramaximális VL ingerlés sem váltott ki IPSP-t, csupán az eredeti EPSP fokozódik egészen az inaktivációs depolarizáció értékéig.

A b. típusu sejtek már minimális VL ingerre is E-IPSP-vel válaszolnak. Az ingererősség további fokozásakor az EPSP-ből akcióspotenciál keletkezik és az IPSP erőteljesebbé válik.

A c. típusu interneuron válaszai a PT neuronokéhoz hasonlóak, ahol az ingererősség fokozásával egyre rövidebb latenciájú akcióspotenciál keletkezik, melyet végül IPSP követ.

A PT neuronok kis intenzitású VL ingerlésre kiváltódó, hármas EPSP-ből összetett posztszinaptikus válaszai nagy változékonyságot mutatnak. A késői EPSP komponensek már kismértékű hiperpolarizáció esetén is erősen redukálódnak.

A VL ingerlés frekvenciájának változása azonos ingererősség mellett már viszonylag alacsony számértékek esetén is / 5-30/sec / nagyon jelentősen megváltoztatja a VL felől kiváltott posztszinaptikus potenciálok megjelenési formáit.

Például 7-12 cps esetén augmentáció alakul ki, míg 15 cps fölötti frekvenciák esetén a poliszinaptikus uton létrejött IPSP komponensek teljesen eltűnnek.

Számunkra ezek a vizsgálatok csak annyiban voltak érdekesek, hogy van-e VL repetitív ingerlésnek olyan utóhatása mely plaszticitásként értelmezhető, másrészt az általunk használt ingerlési frekvenciákon mennyire stabilak a VL teszt EPSP-k paraméterei. A kondicionálásck során 0,5-1

cps VL ingerlést végeztünk és az intracellularis válaszok változatlan formát mutattak hosszabb ingerlési idő után is.

Néhány esetben azonban magasabb frekvenciájú / 10-40 cps/ VL ingerlést is alkalmaztunk abból a célból, hogy összehasonlítsuk a homoszinaptikus VL aktiváció és a kondicionáló PT heteroszínaptikus VL aktiváció és a kondicionáló PT heteroszínaptikus ingerlés hatásait ugyanazon sejten, azonos ingerlési frekvenciákon.

Az egyes neuronok esetében részletesen kitérünk az ilyen típusu elemzésekre.

2./ VL EPSP-k kondicionálása időbeliségre nem specifikus módon alkalmazott akcióspotenciálsorozattal.

a./ PT neuronok kondicionálása 5-30 cps antidróm ingerléssel.

25 PT neuront elemeztünk, melyek közül 7 neuron esetében találtunk plasztikus változásokat.

A vizsgált neuronokat a teszt VL EPSP-k alapján két részre lehetett osztani: a/ VL ingerlésre EPSP-vel válaszoló neuronok / 10 sejt /, b/ VL ingerlésre komplex E-IPSP-vel válaszoló neuronok / 15 sejt / csoportjára.

Természetesen a VL EPSP-k paraméterei az előbb már tárgyaltak szerint bizonyos mértékben függtek a VL ingerlés jellemzőitől.

A neuronok kondicionálása a következő lépések szerint történt: először 0,5-1 cps frekvenciával teszt VL EPSP-t váltottunk ki, melyet 5-30 cps frekvenciával 5-20 mp időtartamu antidróm tetanizálás követett.

7 neuron esetében a VL teszt ingerlés a kondicionáló tra-
in idején is folytatódott, melynek befejezése után újra
csak 1 cps VL tesztimpulzusokat alkalmaztunk, egészen a
kontrol neuronválasz visszatéréséig. Az első neuroncso-
portból 4 sejt és a második csoportból 3 sejt esetében
tudtunk plasztikus neuronválaszokat kondicionálni.

Az első típus egyik képviselője a 10. sz. neuron, melyet
a 7/A ábrán mutatunk be. 1 cps PT ingerlésre 0,6 msec
latenciával antidróm spike váltódott ki, míg 1 cps VL in-
gerlésre 0,9 msec latenciájú, 4 mV csúcsamplitúdojú, 15
msec hosszúságú EPSP keletkezett / 16 VL EPSP átlaga /.
15 másodpercig tartó 12 cps PT ingerlés után az első
5 db, valamint a 7. 9. 10. 13. másodpercekben az 1 cps
VL ingerlésre akcióspotenciál jelent meg, majd ismét csak
EPSP. Ujabb kondicionálást végezve a VL ingerlés hatásfo-
kozódása ismét megfigyelhető volt.

A kondicionálás során nem változott a neuron alapaktivi-
tása / 3,5/sec / és a membránpotenciál értéke is azonos
maradt / 49 mV /.

Az előzőhöz hasonló 29. sz. neuron VL ingerlése $1,6 \pm 0,05$
msec latenciájú / 20 db átlaga / akcióspotenciállal vála-
szolt és PT ingerlésre 0,55 msec latenciájú antidróm spike
váltódott ki. 10 cps frekvenciájú, 15 mp-ig tartó anti-
dróm tetanizálás után a VL felől kiváltott akcióspotenci-
álok latenciája csökkent. A kondicionálás utáni első 22
db átlaga $1,4 \pm 1$ msec, de egy esetben 1,2 msec és három
alkalommal 1,3 msec is volt. Ujabb, az elsővel azonos

kondicionáló ingerlés után a VL spike-ok latenciaideje 1,35-1,4 msec közötti értékeket mutatott. Ha ezután 30 mp múlva 10 cps VL ingerlést végeztünk, a VL spike-ok latenciája $1,85 \pm 0,05$ msec volt. Így az antidróm kondicionálás után mutatkozó VL spike latenciaidő csökkenése nem magyarázható preszinaptikus eredetű hatékonyság fokozódással.

VL ingerlésre kettős EPSP-vel válaszoló típusneuron az 58. sz. sejt, melyben PT ingerlésre 0,7 msec latenciaidővel antidróm spike váltódott ki. VL 1 cps ingerlésre 0,4 msec latenciájú akcióspotenciál és ezt követően két EPSP mutatkozott. Az EPSP-k latenciaideje 2 msec és 3,6 msec, csucslatenciájuk 2,8 illetve 5,5 msec volt / 7/B ábra /. 8 másodperces 25 cps frekvenciájú ingerlés jelentékeny facilitációt hozott létre a VL EPSP-ken.

Kondicionálás után 1 cps VL tesztimpulzusokat adva 4 mp-ig váltódott ki akcióspotenciál; azonban az ezt követő első két VL ingerlésre a rövidebb latenciájú EPSP-ből míg a következő négyre a későbbi EPSP komponensből keletkeztek akcióspotenciálok. Ujabb kondicionálás ismét létrehozta a VL EPSP-k facilitálódását. Mintegy 3 másodperces kezdeti depressziós fázis után az első 4 VL EPSP-ből váltódott ki akcióspotenciál, míg a következő tíz VL ingerbetörés esetén csak egyetlen alkalommal / 6. inger / a második EPSP-ből keletkezett spike. A facilitáció időtartama meglehetősen rövid volt és egyetlen esetben sem haladta meg a 15 másodpercet. Megfigyelhető még, hogy a rövidebb latenciájú EPSP komponensek nagyobb való-

szinüséggel facilitálódtak. A kondicionálás után nem változott a neuron alapaktivitása és az antidróm spike magassága sem.

A VL EPSP-vel válaszoló neuronok másik jellegzetes típusa az 55. sz. sejt, melyet 1000 μ mélységben találtunk. PT ingerlésre 2 msec latenciájú antidróm spike és IPSP váltódott ki 71 mV membránpotenciál és 79 mV akcióspotenciál értékek mellett. A spontán tüzelési frekvencia 17,5/sec volt.

VL ingerlésre a stimuláció erősségétől függően jellegzetes PSP mintázat alakult ki, melyet a 6. ábra nem PT neuronok c. típusaként ábrázoltunk.

A kondicionálást olyan erősségű VL ingerlésnél végeztük, ahol minden egyes VL tesztimpulzusra a 14-15 msec közötti csucslatenciájú EPSP-ből 3-4 akcióspotenciál váltódott ki / 7/C ábra /. Kondicionálás közben / 12 cps 10 másodpercig tartó antidróm ingersorozat / a neuron alapaktivitása gátlódott az antidróm akcióspotenciált követő IPSP-k szummálódása következtében. A kondicionálás után adott 1 cps VL tesztimpulzusokra az EPSP-ből történő akcióspotenciál keletkezés maximuma 6-8 msec körüli értékre csökkent.

A kondicionálás hatása tehát a VL EPSP latenciaidő csökkenésében nyilvánult meg, mely megfelel a VL impulzuserősség növelés hatásának / 7/C. ábra diagramja /.

A kondicionálódás időtartama ebben az esetben sem nyult 15-16 mp-nél tovább, mert a 15. mp után újra 10 msec-nál hosszabb latenciaidejű akcióspotenciálok váltódtak ki. Meglepő módon a VL ingerlésre kiváltott 0,89 msec latenciájú EPSP az ismételt kondicionálások után sem facilitáló-

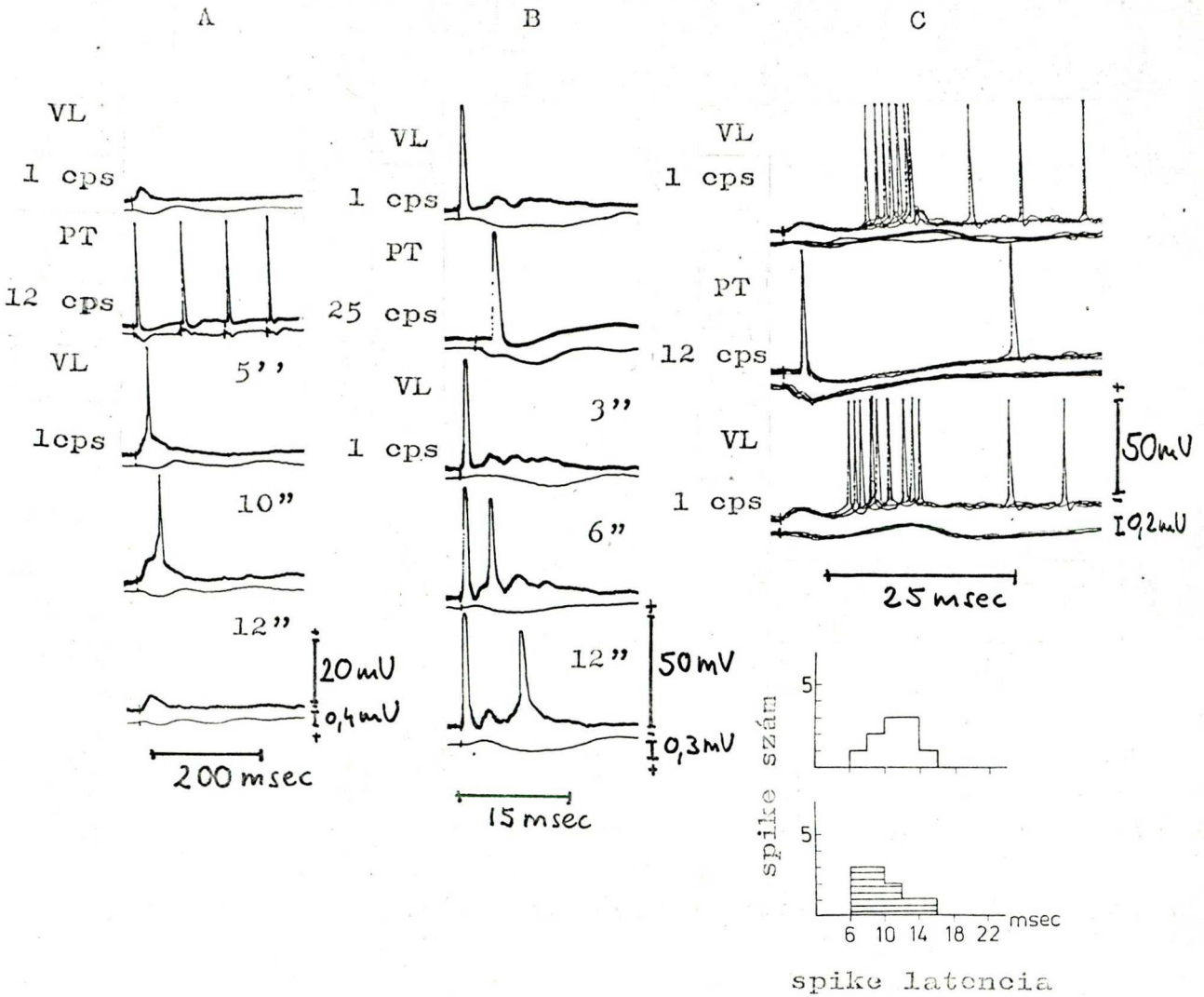
dott. 10 cps VL ingerléskor ugyanez a rövid latenciájú EPSP komponens redukálódott és 6-11 valamint 16-21 msec közti latenciáidővel akcióspotenciálesoportok jelentek meg. Ugy tűnik, e neuron kondicionálása esetén a facilitáció létrejöttében komplexebb mechanizmusok, az augmenting-rendszer poliszinaptikus neuronhálózatai is résztvesznek, mert a PT kondicionáló ingerlés után is lényegében a 6-11 msec közötti EPSP facilitálódott és nem a rövid latenciájú EPSP komponens. Erdemes röviden megemlíteni e neuroncsoport sikertelenül kondicionált tagjait is / 6 neuron/, melyek kondicionálása az előzőekkel azonos módon történt. 3 esetben több mint félórás regisztrálási idő mellett, ismételt 5-20 mp-es, 10-25cps PT ingerléseket alkalmazva sem tapasztaltuk a VL EPSP-k potencirozódását.

2 neuron esetében a gyors PT neuronok antidróm spike-ját követő EPSP is megnövekedett az ismételt antidróm aktiváció során, azonban az egyidejűleg vagy megelőzően kiváltott VL EPSP-k paraméterei nem változtak.

VL ingerlésre E-IPSP-vel válaszoló 15 kondicionált PT neuronunk közül 3 esetben tapasztaltunk plasztikus neuronválaszokat.

A 8. ábrán bemutatott neuron 62 mV nyugalmi membránpotenciál mellett, PT ingerlésre 3,7 msec latenciaidejű 66 mV magasságu antidróm akcióspotenciállal válaszolt. 1 cps VL ingerlésre 2,0 és 4,5 msec latenciájú EPSP-k váltódtak ki, melyeket mintegy 70 msec hosszúságu IPSP követett.

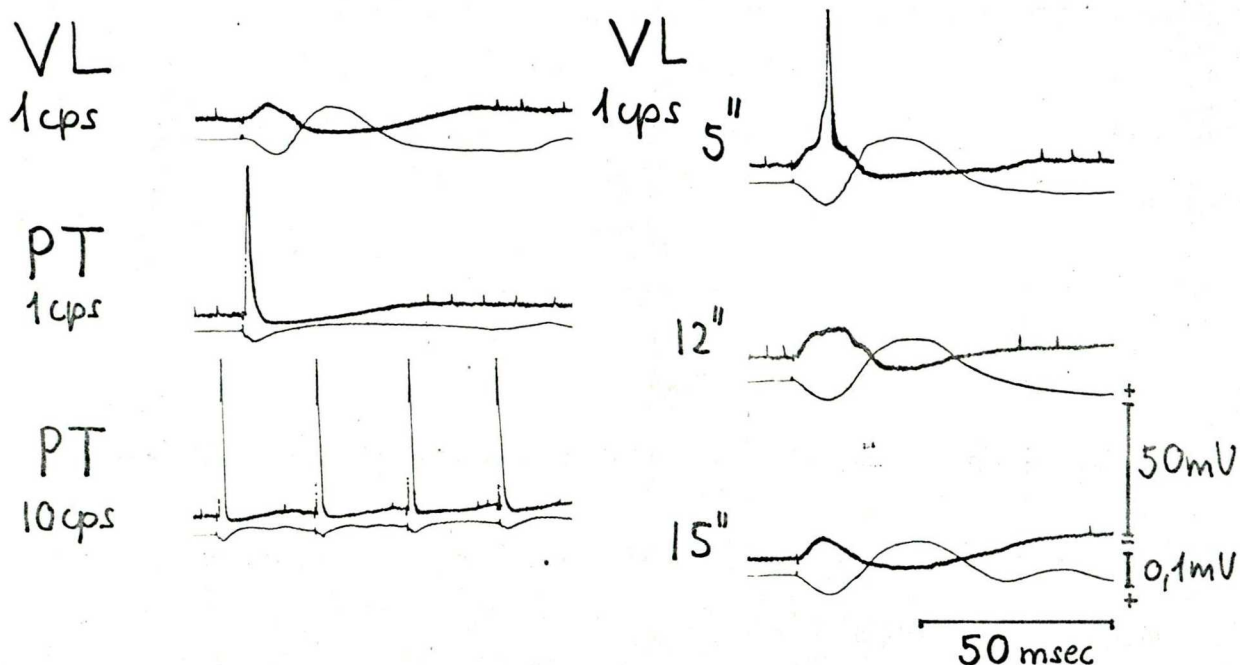
Antidróm kondicionálás után / 10 cps, 15 mp / a sejt membránpotenciálja 4-5 mV-al csökkent és tüzelési frekvenciája 2,7/sec-ről 5,2/sec értékre nőtt.



7. ábra: PT neuronok VL EPSP-inek kondicionálása antidróm tetanizálással. Az egyes sejtek részletes leírása a szövegben található.

Ezzel párhuzamosan az antidróm spike magassága 60 mV-ra csökkent. A VL EPSP-k mintegy 10 mp-ig kondicionálódtak és 4/10 arányban akcióspotenciálok keletkeztek. A kondicionálás utáni 15. másodpercre már megszűnt a VL EPSP-facilitációja. Megismételt 25 mp. 10 cps antidróm kondicioná-

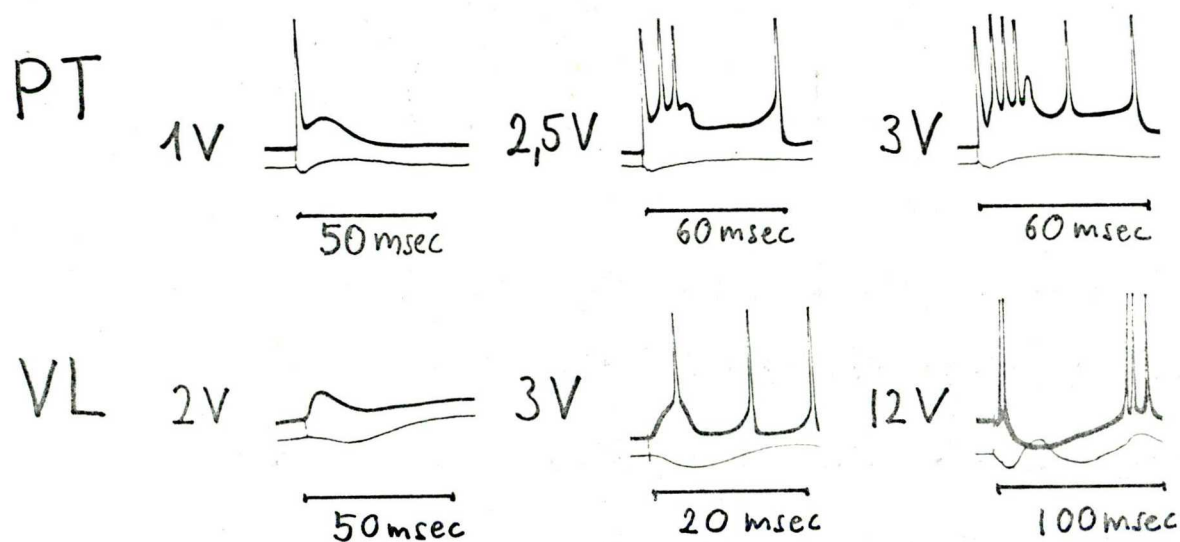
lás után a neuron membranpotenciálja a már nem változott / 58 mV / és az előzőhöz hasonló mérsékelt EPSP facilitálódást lehetett megfigyelni, mely 10 mp alatt megszűnt. A VL EPSP megnövekedését hasonlóan más neuronokhoz, 2-3 mp depressziós fázis előzte meg. Az IPSP komponens változatlan maradt a kondicionálás után.



8. ábr.: VL E-IPSP kondicionálása lassu PT neuron antidróm ingerlésével . A baloldali legfelső ábra mutatja, hogy kondicionálás előtt 1 cps VL ingerlésre EPSP és azt követően IPSP váltódik ki. 10 cps PT train után csak az EPSP facilitálódik és belőle akcióspotenciálok keletkeznek. Az ábra jobboldali képsora a kondicionált posztszinaptikus válasz

kialvását mutatja be. Látható, hogy a facilitáció 15 mp alatt teljesen megszűnik. Az intracelluláris regisztrátumon megfigyelhető apró spike-ok egy szomszédos neuron vagy idegrost aktivitását tükrözik.

Sikeresen kondicionált következő neuronunk / 38. sz. sejt/ szupramaximális VL ingerlésre / 12 V, 0,2 msec / komplex E-IPSP szekvenciával válaszolt, melyet 3-6 tagból álló ciklusos utókisülés követett. PT ingerlésre 0,65 msec latenciával antidróm spike és azt követő EPSP váltódott ki / 9. ábra /.



9. ábra: Gyors PT neuron gradált szinaptikus válaszai fokozódó intenzitású PT és VL ingerlések esetén.

A neuront több mint 1,5 óra hosszáig elemeztük 46-58 mV membránpotenciálértékek mellett és a következő méréseket

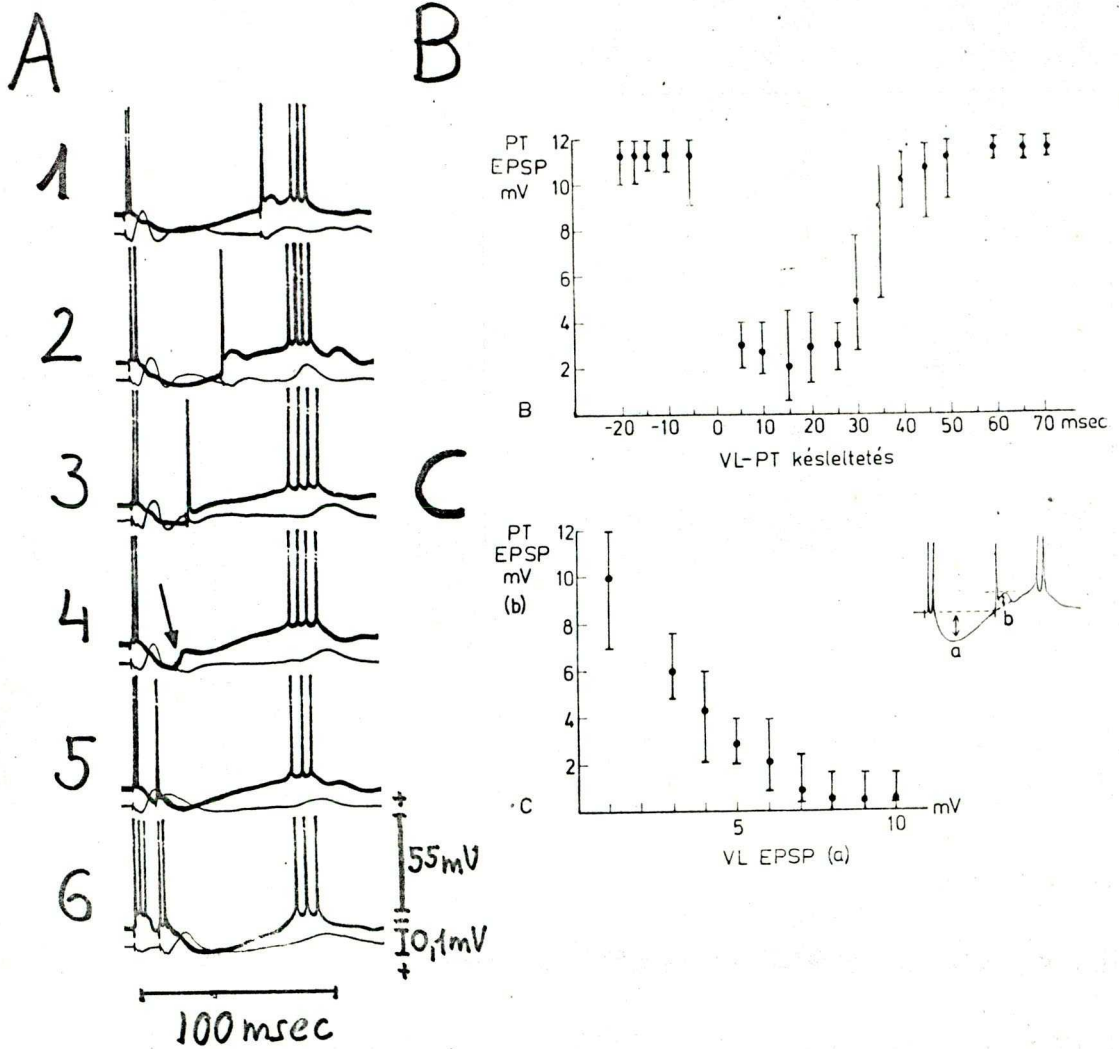
végeztük el: a./ VL és PT ingerek kölcsönhatásainak vizsgálata, b./ kondicionálás 5-25 másodperces antidróm tetanizálással, c./ VL-PT ingerpáros időben kontingens társítása.

A VL és PT neuronok kölcsönhatásait szemléltetjük a 10. ábrán. Ha PT inger követi VL ingerbetörést, akkor az antidróm spike utáni EPSP amplitudója a VL-PT ingerek közti latenciaidőtől függően csökken. A VL-PT kölcsönhatások vizsgálatát 11 egyéb neuronon is elvégeztük és a gátlás időbeli viszonyait tekintve más szerzők adataival megegyező eredményeket kaptunk, / Stefanis és Jasper 1964 a, b, Asanuma és Brooks 1965, Brooks és Asanuma 1965, Kameda és mtsai 1969 /.

Ha az előző neuronokhoz hasonlóan néhány másodpercig 11 cps frekvenciájú PT ingerléssel kondicionáltunk, a neuron membránpotenciálja 56 mV-ról 50 mV-ra csökkent és néhány másodpercig szinte konvulziószerű tüzelési aktivitás / 150-200/sec / követte / 11/A ábra /.

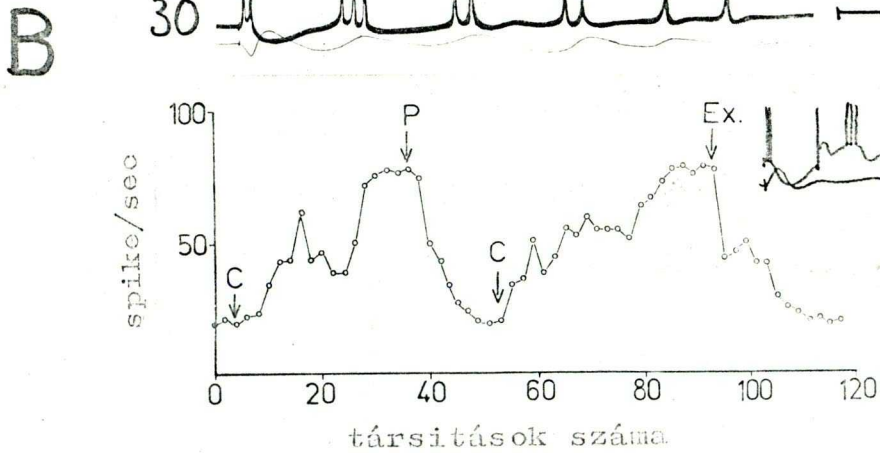
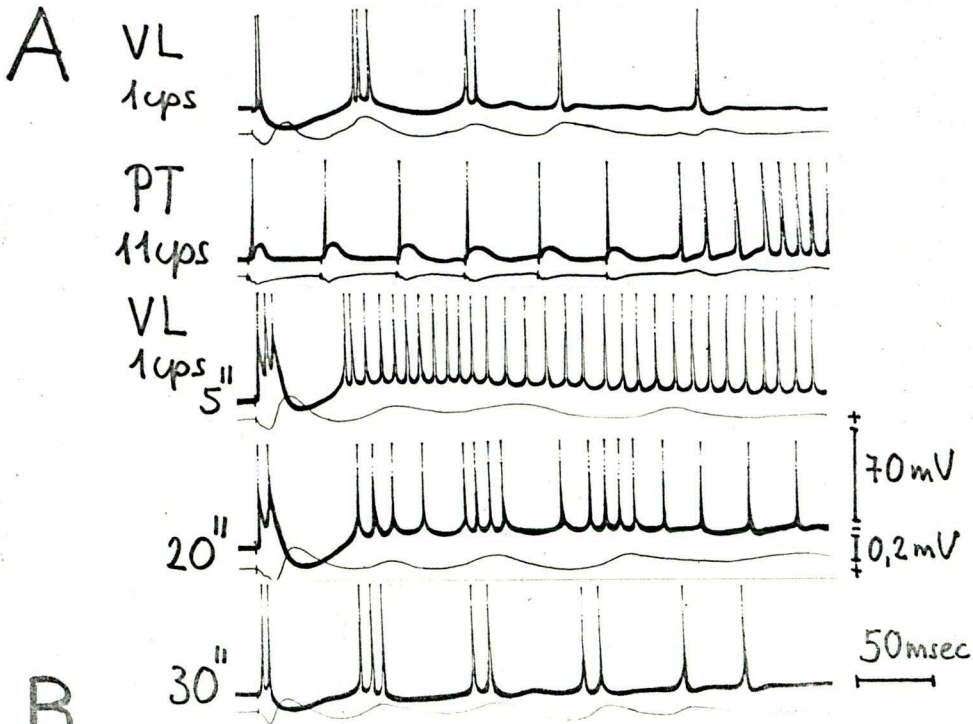
A neuron depolarizált állapota együttjárt a serkentő szinaptikus hatások fokozódásával és a gátlási periódusok rövidülésével. Megszűnt a VL ingerlésre kiváltódott ciklusos utókisülés és maszkírozódott a vele kapcsolatos E-IPSP szekvencia.

A frekvens tüzelés időtartama, a PT train hosszúságától függött, majd a sejt fokozatosan visszatért nyugalmi állapotába. Az általunk használt 11 cps frekvenciájú 18-80 tagból álló impulzussorozatok esetén átlag $a=0,3 \cdot PT$ impulzusszám másodpercekben kifejezett számértékéig tartott a depolarizáció, 8 mérés adatai alapján megmérve. A neuron



10. ábra: VL és PT ingerlés kölcsönhatásai gyors PT neuronban. Az A. ábra felvétel sorozata szemlélteti a VL felől kiváltott gátlóhatást, mely a PT EPSP fokozatos amplitudó-redukciójához vezet. A 4. sz. felvételen nyíl mutatja, hogy az EPSP antidróóm spike nélkül jelent meg. A B. diagrammon ábrázoltuk a VL EPSP amplitudóértékeket a PT-VL stimulusk közti időintervallum függvényében. A C. grafikonon a PT EPSP és VL IPSP amplitudóértékek közti összefüggés látható.

elhuzódó, fokozott ingerlékenységi fázisa azonban akkor is kialakult, ha a PT antidróm ingerbetörés mintegy 60 msec késéssel követte a VL ingerlést és annak " rebound " fokozott ingerlékenységi fázisába esve, 1 cps frekvenciával, időben kontingens módon társítottuk / 11/B ábra /.



11. ábra: A: VL ingerlésre E-IPSP-vel válaszoló, gyors PT neuron kondicionálása 11 cps PT ingerléssel. Látható, hogy a 20. mp után csökken a neuron frekvens tüzelési aktivitása és a 30. másodperc körül visszatér nyugalmi állapotába. B: a VL-PT ingerpáros időben kontingens társításának kondicionálási görbéje azt mutatja, hogy a priming típusu kondicionáláshoz hasonló módon megnövekedik a neuron aktivitása és álkondicionálás / Á / vagy extinció próba / Ex / visszatér a nyugalmi szintre. A neuron kontrol tüzelési

aktivitása 19,5/sec. Az ábrabetéten a társítás jellemző részlete látható. Minden pont 2 társítás átlagát jelenti. C: a kondicionálás kezdete.

A társítások során a neuron membránpotenciálja csökkent, tüzelési aktivitása a nyugalmi 19,5/sec-ről 70-90/sec-ig emelkedett.

A PT inger elhagyása után / extinció próba / vagy a PT-V ingerpáros időbeli viszonyának változtatásával / álkondicionálás / a neuron fokozatosan visszatért a nyugalmi aktivitás szintjére. Az időbeliségre nem specifikus antidróm tetanizálás és a PT-VL ingerek időben kontingens társítása ugyanolyan aktivitásfokozódást hozott létre. Mindkét esetben mintegy 25-30 mp alatt kialakult a VL kondicionált válasz, mely a neuron fokozott ingerületi állapotának következményeként jelentkezett.

Sikeresen kondicionált 89. sz. neuronk PT ingerlésre 0,6 msec latenciájú antidróm spike-al és azt követő EPSP-vel, míg VL ingerlésre E-IPSP-vel válaszolt.

Megvizsgáltuk a VL E-IPSP frekvenciafüggését 6, 12, 30/sec VL ingerlések esetén. 6-12 cps ingerlési frekvenciáknál augmentáció alakult ki.

Hasonló frekvenciafüggés vizsgálatot e közleményben részletesen nem tárgyalt 15 más neuronon is végeztünk 2-30 cps ingerlési frekvenciák között. Azt tapasztaltuk, hogy a VL ingerlés alatt megjelenő EPSP növekedés az ingerlés után 1-2 mp alatt visszatért eredeti állapotába.

Igy 5 neuronon 5-10 esetben 10 másodpercenként ismételt 2-10 mp időtartamu 5-20 cps VL ingerlések után sem tapasztaltunk akár néhány másodpercig is megmaradó VL EPSP faci-

litációt, holott augmentáció minden esetben kialakult. A motoros kéregben keletkező VL EPSP-k plasztikus sajátosságai eltérnek a hippocampus granulasejteken tapasztalt plasztikus változásoktól, ahol a fenti típusu kondicionáló ingerlések long-term potencirozódáshoz vezetnek / Lømo 1971, Bliss és Lømo 1973, Bliss és Gardner-Medwin 1973, Alger és Teyler 1976 /.

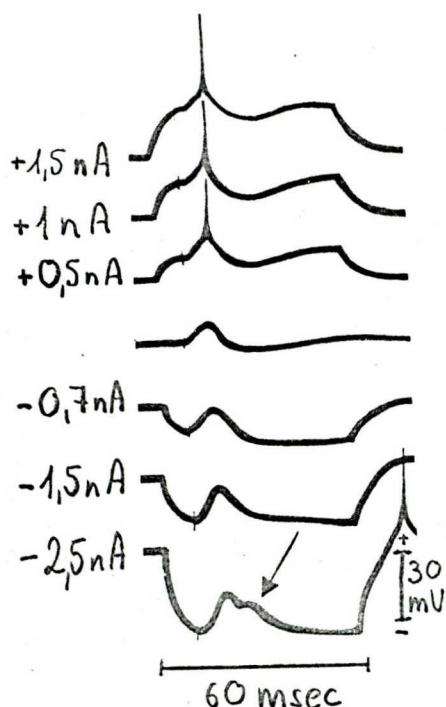
Ha a neuront 30 cps 5-10 mp VL ingerléssel potenciroztuk, 2-3 mp depressziós fázis után a neuron tüzelési aktivitása fokozódott / 40-50/sec / majd 30-40 mp múlva visszatért nyugalmi értékére / 11,5/sec/.

30 cps PT trainnel kondicionálva a neuront, ismét megnövelte tüzelési aktivitását, melynek időtartama az előző neuronhoz hasonló módon függött a kondicionáló ingerek számától és mintegy 10-20 másodpercig tartott. Valószínű, hogy mind a 30 cps VL ingerlés, mind a PT tetanizálás, gátlási folyamatok kikapcsolásán keresztül hozták létre a neuron tónusfokozódását.

Fiziológiásnak tekinthető membránpotenciálértékek között / nyugalmi 55 ± 20 mV / végzett intracelluláris polarizáció nem befolyásolta lényegesen a VL EPSP paramétereit. Az IPSP-k depolarizáció esetén amplitudónövekedést és hiperpolarizáció esetén amplitudócsökkenést mutattak / 12 ábra/. A neuron depolarizált állapota az előző sejtekhez hasonlóan együttjárt a gátló szinaptikus hatások csökkenésével és a serkentő szinaptikus hatások fokozódásával.

Ezért a PT neuronok fentebb leírt kondicionált válaszai, melyek a fokozott tüzelési aktivitással járnak együtt, fel-

tehetően egy poliszinaptikus hálózat ingerületi állapotának változásait tükrözik és nem tekinthetők a VL EPSP specifikus, kondicionált hatékonyság fokozódásának.



12. ábra: VL ingerlésre E-IPSP-vel válaszoló gyors PT neuron vizsgálata intracelluláris polarizációval. Az EPSP komponens érzéketlen polarizációra míg az IPSP depolarizáció esetén megnövekedik és hiperpolarizáció esetén amplitudócsökkenést mutat. A nyíl a polaritásban megfordult IPSP csucsat jelzi.

b./ Nem PT neuronok VL EPSP-inek kondicionálása ortodrom akcióspotenciálsorozattal. Heteroszínaptikus facilitáció. 15 olyan neuron tartozik ebbe a csoportba, melyek PT és VL ingerlésre egyaránt szinaptikus választ adnak. Ezek a sejtek gyakorlatilag a kéreg 0,2-2 mm közötti teljes mélységében előfordultak.

Az előző neuroncsoporthoz hasonló kondicionálási módszer alapján először néhány 0,5-1 cps frekvenciájú VL tesztimpulzussal EPSP-t váltottunk ki, majd ezt követte 5-30/sec frekvenciájú, néhány másodpercig tartó akcióspotenciálsoro-

zat, melyet a gv-i piramispálya ingerlése hozott létre. 9 sejtben találtunk plaszticitásra utaló jeleket. Közülük 3 neuron válaszolt VL ingerlésre monoszínaptikus EPSP-vel, míg a többi 6 sejt komplex E-IPSP szekvenciával.

Az utóbbi neuroncsoport összetett posztzínaptikus válaszaiban az IPSP facilitálódását lehetett megfigyelni és ezek előtt az értekezés következő fejezetében az IPSP-k tárgyalásánál fogjuk megemlíteni.

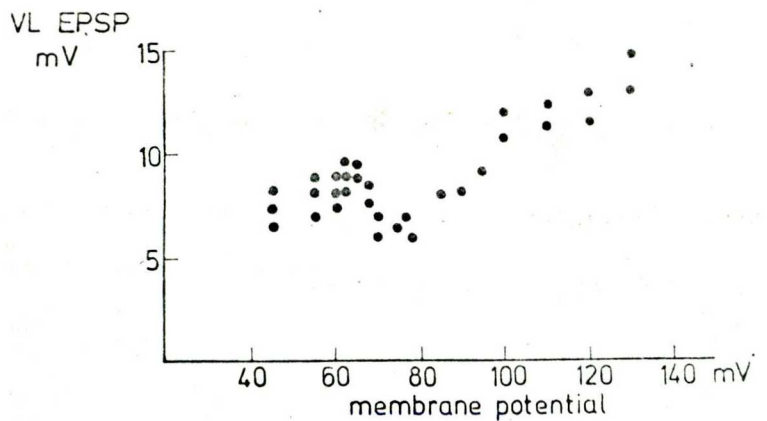
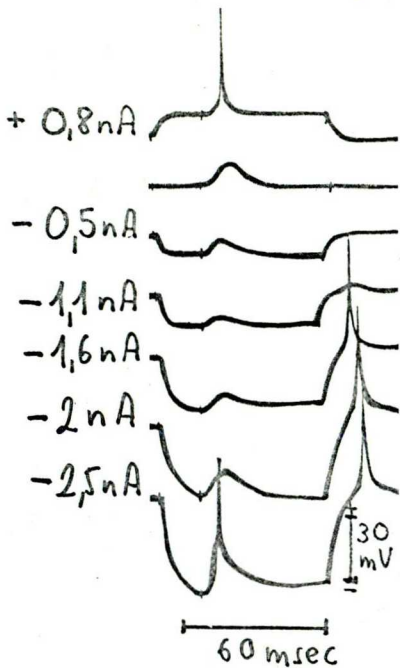
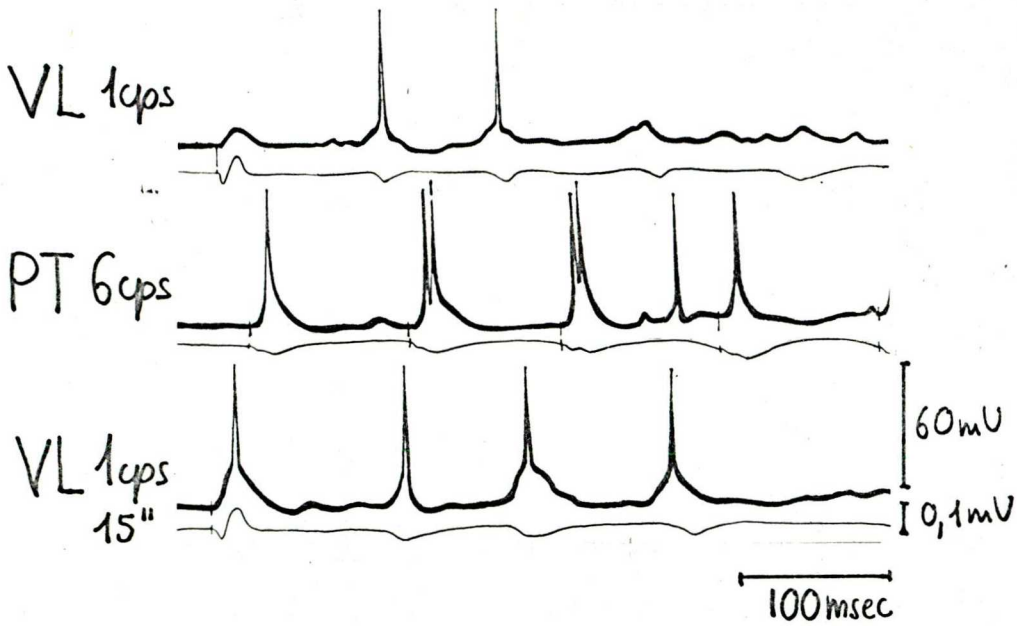
Igy azt mondhatjuk, hogy 15 interneuron közül 3 esetben / 20 % / tapasztaltuk a VL EPSP-k heteroszínaptikus facilitációját, míg 12 neuronban a heteroszínaptikus ingerlések után változatlan maradt a rövid latenciájú, monoszínaptikus EPSP komponens. Lényegében az interneuronok VL EPSP-i közül csak a 2B/1. ábrán bemutatott EPSP típus facilitálódott.

A 13. ábrán szemléltetett neuron / 80. sejt / 1 cps VL ingerlésre 1,2 msec latenciájú, 6-8 mV amplitudójú, 3 msec csúcslatenciájú és mintegy 30-40 msec hosszúságú EPSP-vel válaszolt, míg PT ingerlésre 4 msec latenciával akcióspotenciálokat kiváltó EPSP-k keletkeztek.

A sejt alapaktivitása 11,7/sec volt. Kondicionáló PT ingerlés előtt 30 VL tesztimpulzust alkalmaztuk mely 6 esetben / 20 % / akcióspotenciált váltott ki, és 4-5 tagból álló utókisülés követte. 6 cps VL ingerlés kis-mértékű augmentációhoz vezetett.

Hasonlóképpen 6 cps frekvenciával 15 mp-ig tartó kondicionáló PT ingerlés után a neuron membránpotenciálja 60 mV-ról 55-56 mV-ra csökkent már az ingerlés 2-3. másod-

A



13. ábra: Interneuron kondicionálása 6 cps szinaptikus akcióspotenciálsorozattal. A./ VL 1 cps ingerlésre 1,2 msec latenciával EPSP és utókisülések váltódnak ki, míg PT train után / 2. sor / a VL ingerek 90 %-a esetén VL EPSP-ből akcióspotenciál keletkezett. B./ VL EPSP viselkedése a membrán polarizációja esetén. C./ VL EPSP amplitudójának változásai a membránpotenciál függvényében. Nyugalmi membránpotenciál 60-62 mV.

porcében és a kondicionálás befejezése után a depolarizáció mintegy 20-25 mp-ig elhúzódott. A kondicionálás utáni 25. VL ingerbetörés még akcióspotenciált váltott ki. A depolarizációval párhuzamosan a VL EPSP-ből történő akcióspotenciálgenerálás mintegy 90 %-os hatékonyságot mutatott.

A VL EPSP-t intracelluláris polarizálóárammal vizsgálva / 13/B. ábra / fiziológiás membránpotenciálértékek között kismértékű amplitudóredukciót tapasztaltunk és kondicionálás előtt sosem váltódott ki akcióspotenciál. Kondicionálás után kismértékű hiperpolarizációt alkalmazva a VL EPSP-ből szintén nem keletkezett akcióspotenciál, csupán extrém mértékű hiperpolarizáció esetén.

Hiperpolarizálás után az eredeti membránpotenciálértéken újra megjelenik az akcióspotenciál.

A 13/C. ábra grafikonján látható, hogy a VL EPSP membránpotenciáltól való függése -80 mV körüli értékeknél amplitudóredukciót mutat, mely a neuron membránjának anomális viselkedésére utal / Kandel és Tauc 1966, Nelson és Frank 1967, Christ és Nishi 1973, Weiss és Kupfermann 1976 /.

A 85. sz. plasztikus sajátságokat mutató sejt esetén többféle kondicionálási módszerrel elemeztük a VL EPSP-t.

Először extracelluláris elvezetés mellett vizsgáltuk a sejtet és PT ingerlésre 4 msec latenciájú spike-al választott.

VL ingerlésre nem váltódott ki 150 msec-nál rövidebb latenciaidejű extracelluláris válasz. Amikor 20 u-nal előrehaladtunk a kéreg mikrociktród intracelluláris po-

zicióba került, melyet több mint 1μ hosszáig tudtunk megtartani 55-62 mV membránpotenciál és 55-69 mV akcióspotenciál értékekkel.

Ekkor PT ingerlésre egy 3,5 msec latenciájú EPSP-ből akcióspotenciál váltódott ki / 14/A. ábra /.

Intracelluláris polarizálást alkalmazva a PT kiváltott posztszinaptikus válasz nem bizonyult érzékenynek, azonban 30 cps PT ingerlési frekvenciát alkalmazva eltűntek az akcióspotenciálok, így azok biztosan nem antidróóm spike-ok voltak.

VL ingerlésre 0,81 msec latenciával 6-10 mV amplitudójú, 10-12 msec csucslatenciájú és 50-70 m^{sec} hosszúságú monoszínaptikus EPSP váltódott ki, mely intracelluláris polarizációra érzékenyen válaszolt / 14/B. ábra /.

A VL EPSP-ből kiváltódó akcióspotenciálok latenciaideje a hiperpolarizációval párhuzamosan növekedett másrészt nagymértékű hiperpolarizáció esetén / 4,1 nA / csak EPSP jelent meg 18-22 m^{sec} csucslatenciával.

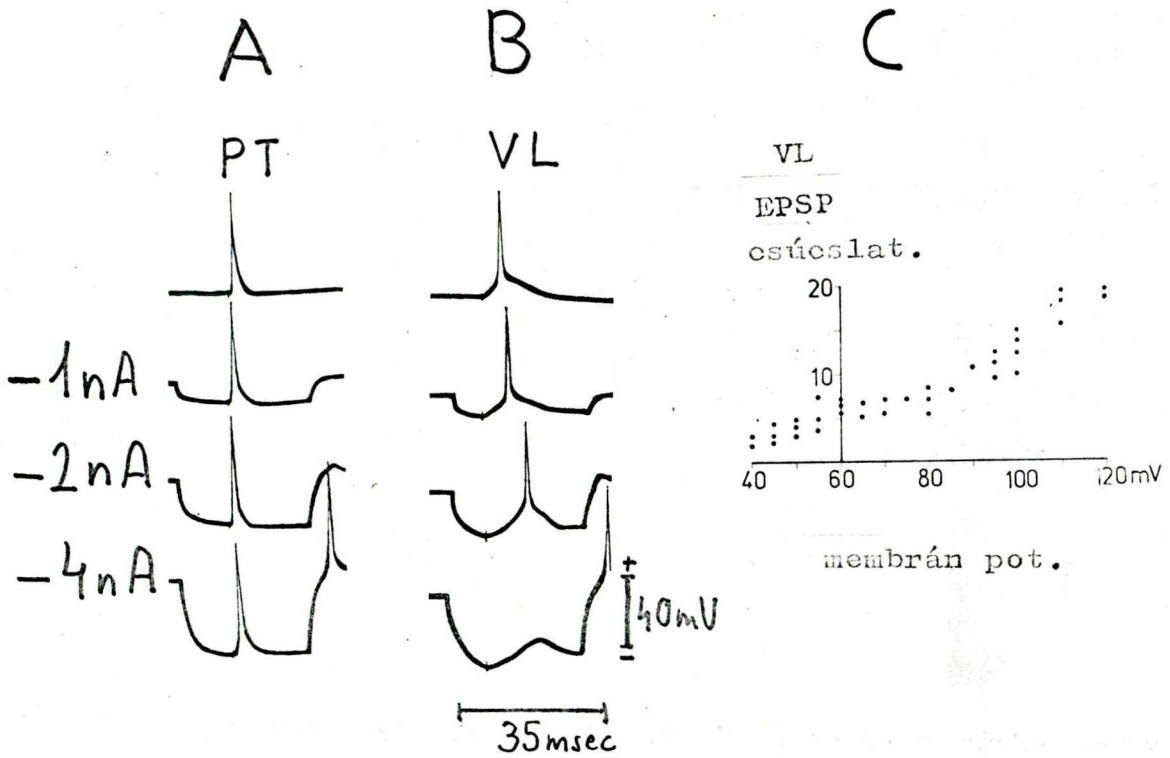
A VL akcióspotenciál latenciája 6-10 mV membránde polarizációkor a kontroll érték 8-10 msec helyett 4-6 msec-ra csökkent.

A PT és VL posztszinaptikus válaszok polarizációs vizsgálatai után első kondicionálási módszerként PT-VL ingerpárost 120 msec késleltetéssel társítottuk / 15. ábra /.

A neuron spontán aktivitása 60-62 mV nyugalmi membránpotenciál mellett 3-4 spike/sec értéket mutatott.

A kondicionálás kezdetén PT ingerlésre 3,5 msec latenciájú akcióspotenciálok és VL ingerlésre 0,81 msec latenciá-

ju monoszinhaptikus EPSP-k váltódtak ki 6-9 mV közötti amplitudóértékkel.



14. ábra: A./ PT ingerléssel kiváltott szinaptikus akcióspotenciál viszonylag érzéketlen a membrán hiperpolarizációjára. Latenciaideje változatlan maradt, míg amplitudója kismértékben nőtt / 4 nA-nál 7 %-al / . B./ VL ingerléssel kiváltott akcióspotenciál latenciája fokozatosan nő hiperpolarizációs völgyben és végül csak EPSP váltódott ki. C./ diagramm mutatja a VL spike / EPSP csúcs / latenciaidejének függését a membrán hiperpolarizációjának mértékében.

Mivel 9 ± 1 mV nagyságu EPSP esetén akcióspotenciál jelent meg, a VL ingerbetörések mintegy 20 %-ában ak-

ciós potenciálok váltódtak ki.

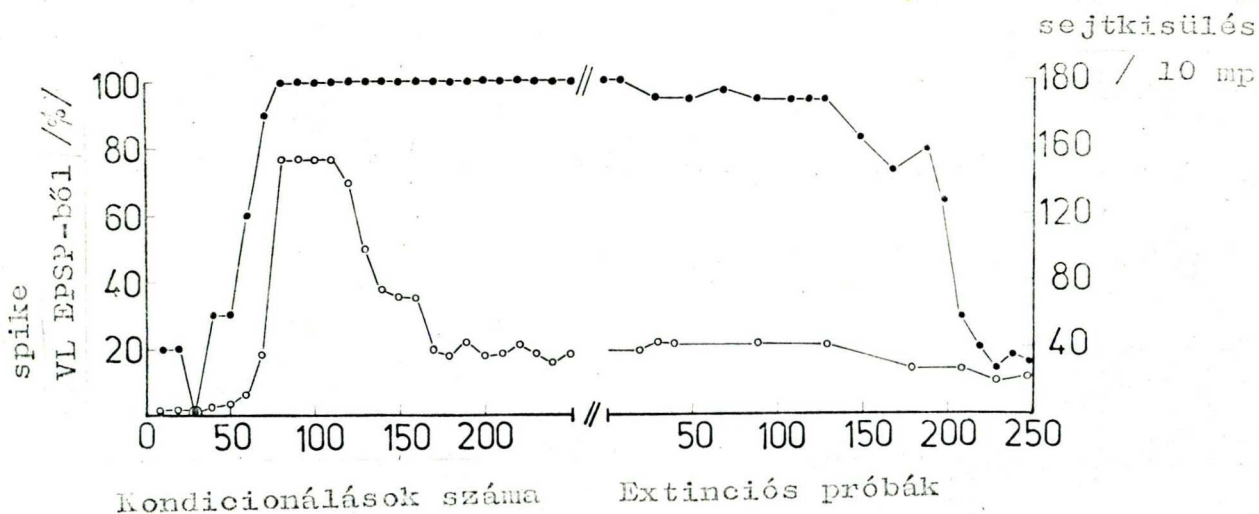
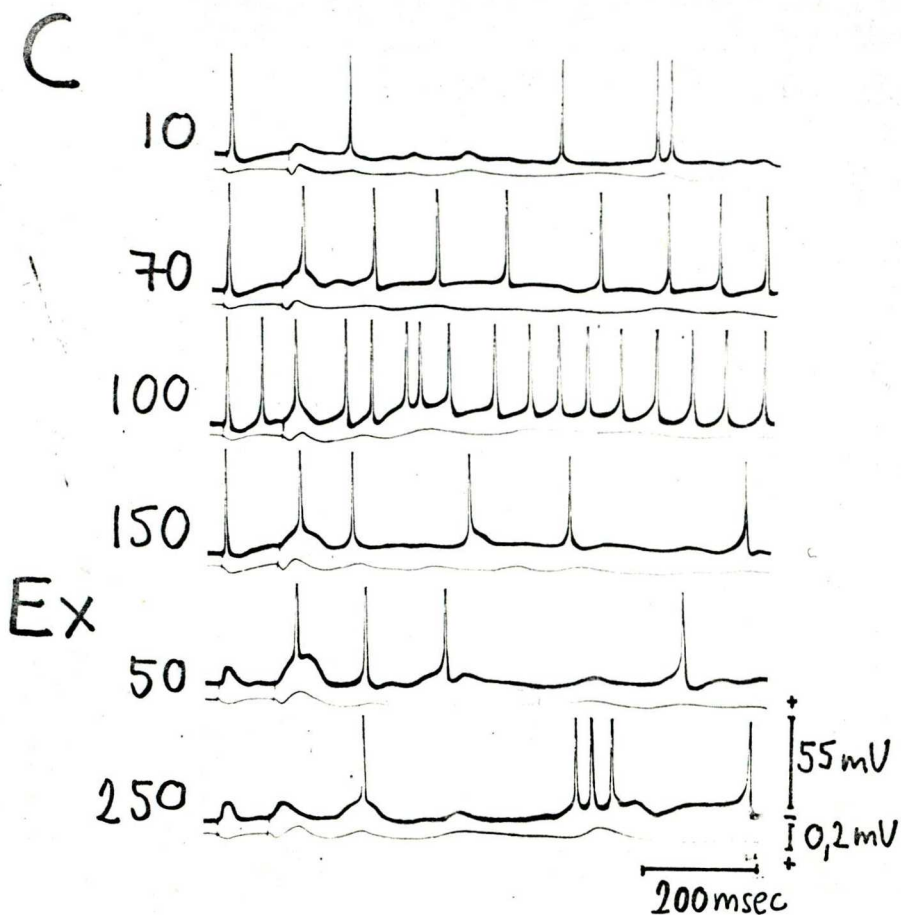
A 40-50. társítások közben jellegzetes változás történt, melynek eredményeként a VL ingerlésre kiváltott akcióspotenciálok gyakorisága 60 %-ra emelkedett és a 60. társítás után gyakorlatilag minden EPSP-ből akcióspotenciál keletkezett / 15. ábra diagrammja /.

A változás abból állt, hogy a társítások során tónusosan depolarizálódott a neuron és nőtt a tüzelési frekvenciája. A depolarizáció értéke 5-6 mV míg a tüzelési frekvencia növekedésének értéke / 3,5 16,7/sec / mintegy 450 % volt.

A 250. társítás után a PT ingerlés erősségét annyira lecsökkentettük, hogy csak EPSP váltódott ki, melyet VL akcióspotenciál követett. A 15. ábra diagrammja mutatja, hogy a VL akcióspotenciálok száma egyre csökkent és 3,5 perc multán kialakult a kondicionált válasz. Megállapítható, hogy a VL EPSP fordított kondicionálását / "backward" / végeztük el a neuronon, míg Aplysián hasonló kísérleti elrendezésben nem lehetett akcióspotenciállal EPSP-t kondicionálni / Wurtz és mtsai 1967, Baumgarten 1970 /.

Neuronunk esetében úgy látszott, hogy nem az ingerlés sorrendje / azaz "CS-US vagy US-CS" / hanem az időbeliség állandósága döntő tényező. Ezt a megfigyelést megerősítette a következő részben leírt 74. sz. neuron is.

Szigoru időbeliség mellett végzett PT-VL ingerpárosítás a membrán időleges depolarizációjához vezetett. Azonban a depolarizáció és a vele kapcsolatos tüzelési aktivitás fokozódás csak a kondicionálódás kezdetén változik ugyanabban az irányban. A 15. ábra diagrammján látható, hogy a



15. ábra: PT szinaptikus spike társítása a VL EPSP-vel. A felső ábrán láthatók a kondicionálási / C / és extinció / E / próbák. A bal szélén levő számok a társítások számát illetve az extinció próbák számát jelzik. Az ábra alsó diagramja bemutatja a VL EPSP-ből keletkező akcióspotenciálok és a sejt spontán aktivitásának változásait a kondicionálás folyamán.

neuron tüzelési aktivitása gyorsan lecsökken a VL EPSP hatékonyság csökkenése nélkül.

Valószínű, hogy a membrán depolarizációja mellett egyéb okok is szerepelnek a VL EPSP facilitációjában és a depolarizáció csak kísérőjelensége a folyamatnak.

A neuront intracelluláris direkt ingerléssel is kondicionáltuk / 16. ábra /, 10 cps frekvenciájú, 20 msec jel-tartamu depolarizáló négyszögimpulzusokkal.

A 40 másodpercig tartó intracelluláris ingerléssel egyidőben 0,3/sec frekvenciájú PT-VL ingerlést is végeztünk. A piramispálya felől kiváltott posztszinaptikus válaszok változatlanok maradtak. A VL EPSP-k 5 esetben egybeesve a depolarizációval nem értékelhetők, míg négy esetben kis-mértékű / 15-20 % / és négy esetben nagymértékű potenci-rozódást mutattak. A kondicionálás csak a VL posztszinap-tikus választ facilitálta és a hatás azonnal megszűnt az ingerlés befejezésekor.

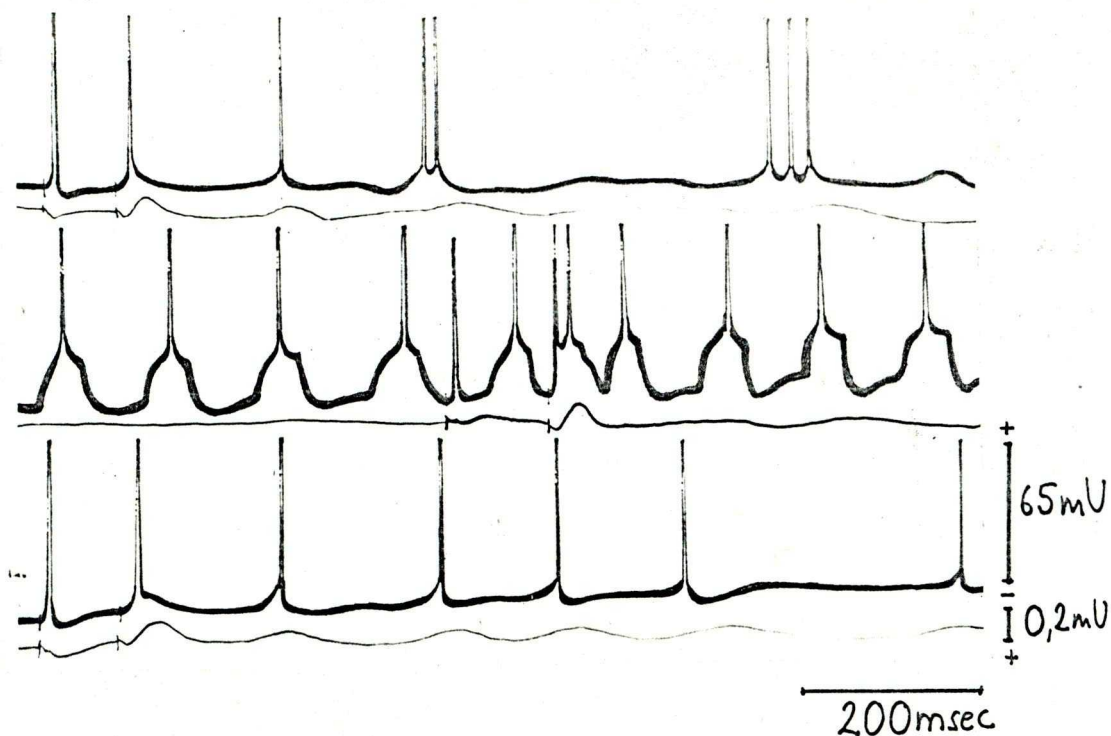
A 3. 6. 9. kondicionálás utáni másodpercekben a VL EPSP-k kondicionálás előtti értéket mutattak.

Az előzőek során tárgyalt sejtekhez hasonlóan PT ingerléssel heteroszínaptikus, priming típusú kondicionálást is végez-tünk 2,6,12,35 cps PT és 2,6 cps VL ingerek együttes alkal-mazásával.

A kapott eredményeket szemléltetjük a 17. ábrán.

Ha 2 cps frekvenciával, külön vagy együttesen PT és VL in-gerlést végeztünk, nem változtak az EPSP-k paraméterei.

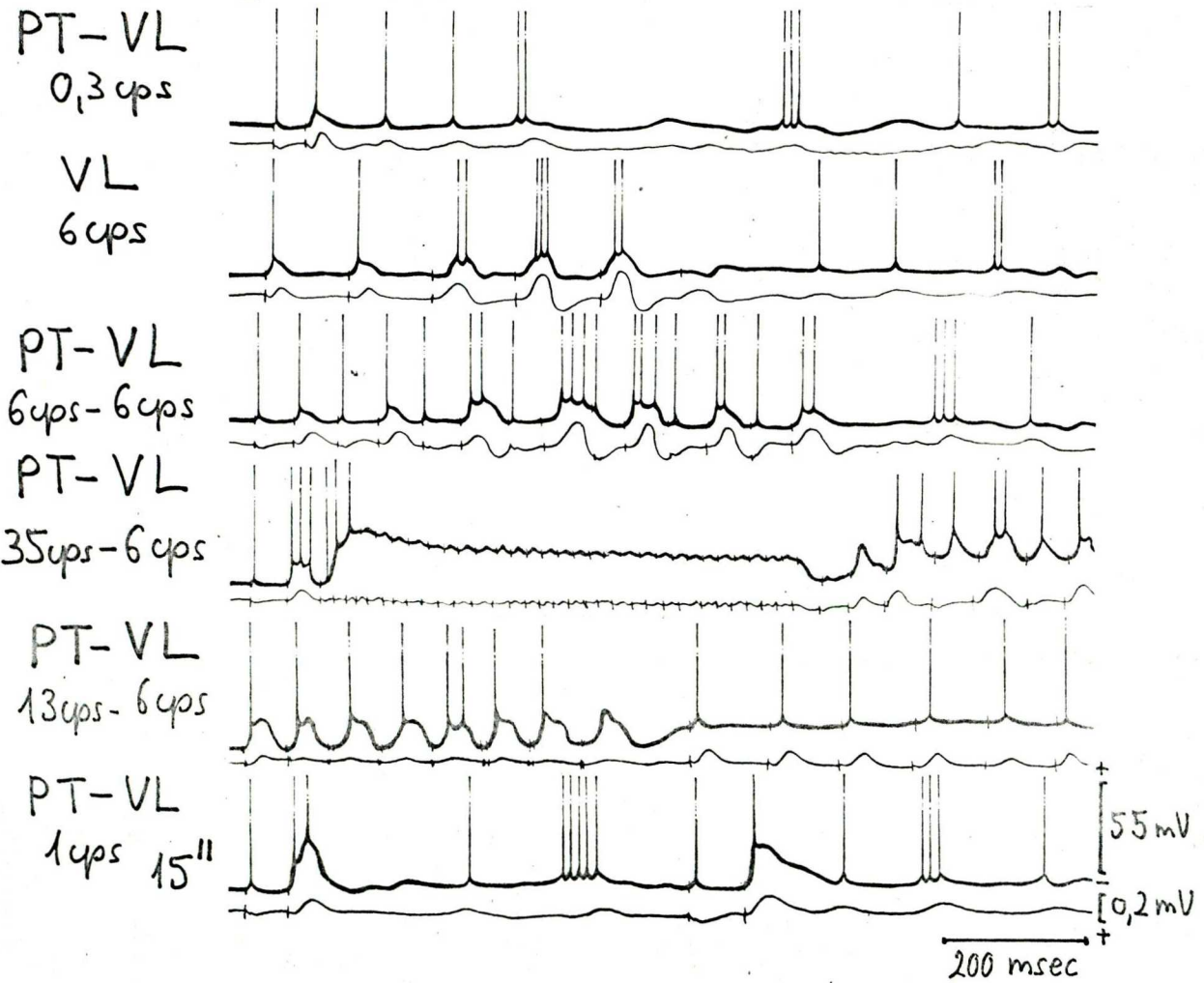
PT-VL ingerpárost 6 cps frekvenciával alkalmazva nem ta-pasztalható nagyobb mértékű VL EPSP növekedés, mint 6 cps



16. ábra: Kondicionálás intracelluláris direkt ingerléssel. A felső sor az ingerlés előtt, a második sor ingerlés közben, a 3. sor ingerlés után a 6. másodpercben készült felvételt mutatja.

PT-VL ingerlések közben csak a VL EPSP növekedett.

Amikor a PT ingerlést 35 cps frekvenciára emeltük 6 cps VL ingerlés mellett, nagymértékű depolarizáció jött létre, kezdetén akcióspotenciálokkal. Tetanizálás után újra 6 cps PT-VL ingerlésre visszatérve, fokozatosan csökkenő hiperpolarizáció / 5-6 mV / mellett mind a PT mind a VL EPSP nagymértékű potencirozódást mutatott. Azonban a PT EPSP potencirozódása 6 mp alatt teljesen megszűnt, de a VL EPSP csak 25-27 mp elteltével tért vissza az ingerlés e-



17. ábra: Nem PT neuron heteroszínaptikus kondicionálása. A 2. és 3. sor felvételei mutatják, hogy 6 cp homoszinaptikus és heteroszínaptikus ingerlések esetén nincs különbség a VL EPSP-k potencirozódásának mértékében. 35 cps PT ingerlést 6 cps VL ingerléssel szimultán alkalmazva mind a PT mind a VL EPSP jelentékeny potencirozódása figyelhető meg / 4. sor /. 13 cps PT - 6 cps VL ingerlés után 6 cps VL ingerlésre nem alakul ki potencirozódás / 5. sor /.

A 35 cps PT-6 cps VL heteroszínaptikus facilitáció után mintegy 5 mp múlva a PT EPSP facilitációja megszűnik, azonban a VL EPSP csak 25 mp múlva csökken eredeti nagyságúra.

lötti értékére.

Ha a 35 cps PT train után 12 cps PT-6 cps VL ingerlést alkalmaztunk, a fentiekhez hasonló időbeli jellemzőkkel mindkét EPSP potencirozódott.

A VL és PT EPSP-k plasztikus viselkedésüket tekintve jelentősen különböztek egymástól, mivel a VL EPSP lényegesen tartósabb plaszticitást mutatott.

A 35 cps piramispálya ingerlés után mintegy 10 másodperc múlva visszatért a nyugalmi membránpotenciál értéke, és a teszt VL EPSP-k még lényegesen nagyobbak a kontrollnál, míg a PT EPSP már redukálódott.

Hasonlóan a társítások során lejátszódó eseményekhez, a " priming " típusu heteroszínaptikus kondicionáláskor lejátszódó membránpotenciálváltozások sem látszanak döntőnek a plasztikus válasz létrejöttében.

A fenti megfigyelések arra is utalnak, hogy a kérgi heteroszínaptikus facilitáció a augmentáció mechanizmusaitól függetlenül is létezik / augmentáció után 1-2 mp elteltével a VL EPSP nyugalmi értékére tér vissza ! /.

Ezen kívül, mivel a 35 cps PT train után bizonyos idővel / 20-25 mp / már csak a VL EPSP mutat plaszticitást, az nem magyarázható a PT ingerlés poszttetanikus hatásaival sem.

Mind az augmentációtól, mind a PTP-től eltérő változások okozzák a VL EPSP potencirozódást és a heteroszínaptikus

facilitáció preszinaptikus magyarázata kizárható, mivel a monoszínaptikus VL EPSP / latencia=0,81 msec / facilitációja időben lényegesen túlnyúlik a PT EPSP potencirozódásán.

A neuron kondicionálásait összegezve megállapíthatók a következők: a./ az intracelluláris polarizációra érzékeny, b./ intracelluláris direkt ingerlésre szelektíven facilitálódó c./ heteroszínaptikus, priming típusu kondicionáláskor lényegesen plasztikusabb, moszínaptikus VL EPSP kondicionálódott d./ a szigorú időbeliség mellett végzett társítások során is a VL EPSP mutatott plasztikus változást, amikor a PT akcióspotenciál mint feltétlen sejtválasz / US / időben megelőzte a feltételes sejtválaszt kiváltó VL ingerbetörést.

Sikeresen kondicionáltuk a 44. sz. neuront mely VL ingerlésre 2,4 msec latenciaidejű akcióspotenciállal válaszolt, mely 15 cps 7 mp időtartamú piramispálya ingerlés után 1,8 msec latenciával jelent meg. A kondicionáló ingerlés után 1,8 msec-ről fokozatosan növekedett a latenciaérték, majd 16-18. mp mulva visszatért az eredeti latenciaidő értékre.

Sikertelenül kondicionált nem PT neuronjaink esetén 10-30/sec ingerlési frekvenciák mellett 5 vagy több ismételt kondicionálást végeztünk.

Plasztikus változások annak ellenére sem történtek, hogy 6 neuron homoszínaptikus frekvenciapotencirozódást mutatott PT vagy VL magasfrekvenciájú ingerlése után.

Nem tudtunk kondicionálni abban az esetben sem, ha mindkét bemenet felől csak PSP-t lehetett kiváltani.

3./ VL EPSP-k kondicionálása páros impulzusok időben kontingens társításával.

E kondicionálási módszert 17 PT és interneuronon alkalmaztuk olyan kísérleti felállásokban, hogy PT ingerlés egyes esetekben megelőzte, máskor követte a VL ingerlést.

Az egyes ingerek közti időintervallumot olyannak választottuk, mely összevethető a kérgi posztszinaptikus válaszok időbeli természetével. Kísérleteink során ugyanis azt tapasztaltuk, hogy két ingerbetörés / mely a neuron elemi EPSP-t vagy akcióspotenciált hoz létre / néhány másodperces késleltetése a kondicionálás szempontjából jelentéktelen ingert képvisel a neuron alapaktivitásához képest.

A társítások során alkalmazott késleltetési idő nyújtása óhatatlanul egyéb neuronok közreműködésének esélyét növeli egy posztszinaptikus potenciál kondicionálódásának folyamatában.

Ezért a társításokat leggyakrabban 50-150 msec késleltetési idő mellett 0,2-1 cps frekvenciával végeztük.

Vizsgált neuronjaink közül 3 sejt mutatott sikeres kondicionálást. Mivel a 38. sz. gyors-PT neuront / 17. oldal / és a 85. sz. neuront az előzőek során részletesen leírtuk, ebben a fejezetben csak a harmadik, 77. sz. neuront tárgyaljuk.

A neuron 62 mV nyugalmi membránpotenciál értéket mutatott és PT ingerlésre 3,6 msec latenciájú és 62 mV csúcsamplitudójú antidróm spike- al válaszolt. VL ingerlésre

4 msec latenciájú, több komponensből álló EPSP váltódott ki egy 7 msec latenciaidejű akcióspotenciállal / 18. ábra /.

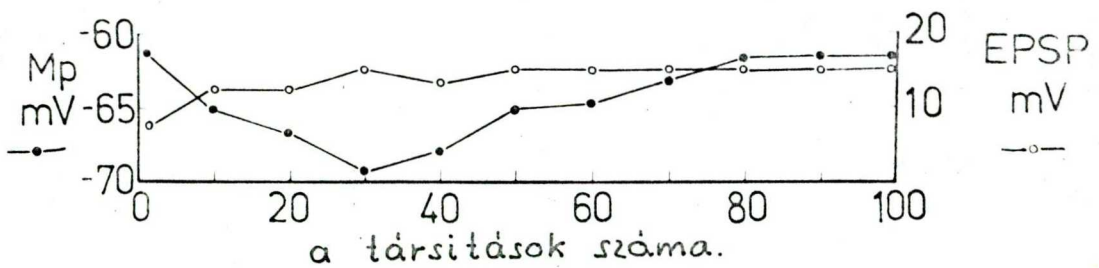
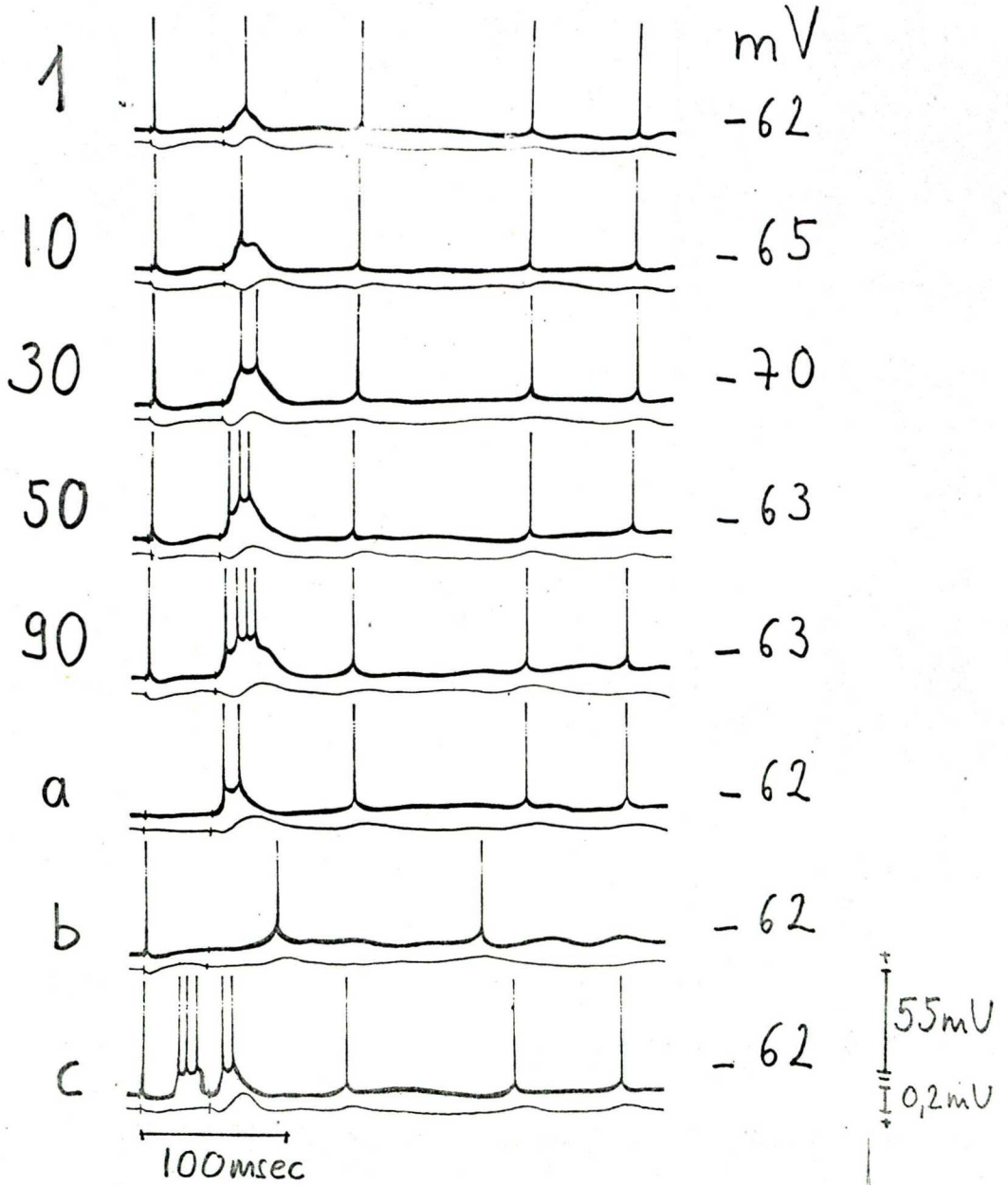
Másodpercenként egy társítást végeztünk PT-VL kondicionálási sorrendben, 40 msec késleltetéssel.

A kondicionálás menetét szemlélteti a 18. ábra felvételsorozata. Megfigyelhető, hogy 30-40 társítás után a VL ingerléssel kiváltott akcióspotenciál latenciaideje 4,2 msec-ra csökken és a 20-25 msec csúclatenciájú késői EPSP komponensek szinte a spike inaktiváció szintjéig facilitálódtak.

A VL ingerlésre kiváltódott utókisülés EPSP-spike mintázatok ugyanakkor változatlanok maradtak. Kondicionálás során az EPSP 8 mV-ról 20 mV magasságúra növekedik és a bortiv akcióspotenciálok keletkeznek belőle.

A VL EPSP amplitúdó és a neuron membránpotenciál érték változásait ábrázoltuk a 18. ábra grafikonján a társítások számának függvényében. Látható, hogy a VL EPSP mintegy 250 %-os növekedése a membránpotenciál jellegzetes változásaival jár együtt. Kezdetben a membrán 62-70 mV értékű hiperpolarizációt mutat, mely az 50. társítás után, még a további társítások közben megszűnik. A membránpotenciál a facilitált VL EPSP leépülése nélkül visszatér eredeti szintjére.

Hiperpolarizációs völgyben az antidróm spike magassága 6 mV-al növekedett, míg az ortodróm akcióspotenciáloké 9-11 mV-al /!/. A hiperpolarizáció megszűnése után az antidróm és szinaptikus akcióspotenciálok újra egyformák /62 mV lesznek /.



18. ábra: PT-VL ingerpáros időben kontingens társítása. A baloldali szélén levő számok a társítások számát, a jobboldali számok a membránpotenciál értékét jelentik.

Az a./ regisztrátum részlet egyedül adott VL ingert ábrázol, melyet 15 másodperccel a kondicionálás után adtunk. b./ Az antidróm ingerlés egyedül alkalmazva. c./ Ha 5 db egyedüli antidróm stimulus után VL ingerrel újra társítunk, a PT ingerlés után anomális válasz jelenik meg. Az ábra alsó részén levő diagrammon ábrázoltuk a VL EPSP és a membránpotenciálérték változásait. Látható, hogy az EPSP potencirozódása a társítások egy adott száma után kontroll értéknek megfelelő membránpotenciálra is változatlanul megmarad.

Szisztematikus extinció próbát nem tudtunk végezni, azonban a 90. társítás után 14 VL ingerlést egyedül alkalmazva nem mutatott hatékonyságcsökkenést a VL EPSP. Azonban néhány másodpercig csak PT ingerlést végezve a VL EPSP nagysága az újrakezdett társítások első néhány másodpercében erősen lecsökkent.

Egy ilyen esetben PT ingerlésre rendellenes válasz keletkezett, ami abban nyilvánult meg, hogy PT ingerbetörés után, a VL posztszinaptikus válasz megelőzésével a VL ingerlésre jellemző facilitált EPSP jelent meg / 18. ábra /.

A kondicionálás során tapasztalt membránhiperpolarizáció még a társítások közben megszűnt a kondicionált EPSP redukciója nélkül. Ezért azt kell mondanunk, hogy a membránpotenciálváltozás kísérőjelensége a kondicionált válasz kialakulásának.

Azonban a kondicionált válasz a társítások adott száma után / stabilizációs fázis / a kontrollhoz képest változatlan membránpotenciálértéken is megjelenik.

Az előzőek során leírt 85. sz. neuronhoz hasonlóan az akcióspotenciál ebben az esetben is megelőzte a VL inger-

betörést. A társítások közben az utóbbi facilitálódott és a szokatlan PT-válasz meglepő módon arra utal, hogy a PT akcióspotenciál a VL EPSP jelzőingerét képezte. Sikertelenül kondicionált 14 másik neuronunk esetében többféle és a " plasztikus " neuronokon is alkalmazott kondicionálási módszer alapján társítottunk.

Az akcióspotenciál megelőzte, egybeesett vagy követte a VL EPSP-t. 6 neuron esetében 50-300 msec késleltetéssel több mint 400 társítást végeztünk a klasszikus kondicionálás és a fordított kondicionálás módszerével is, azonban nem tudtunk kondicionált választ kiépíteni.

4./ VL EPSP-k kondicionálása intracelluláris direkt ingerléssel.

14 neuront kondicionáltunk intracelluláris depolarizáció útján kiváltott akcióspotenciál sorozattal.

7 neuron esetében néhány másodperces / 2-10 mp / priming stimulációt alkalmaztunk és 5 neuronon tapasztaltuk, hogy a posztszinaptikus membrán frekvens akcióspotenciálgenerálása a VL EPSP-k plasztikus megváltozásaihoz vezet.

7 másik neuron esetében a VL EPSP-t egy depolarizáló négy-szögimpulzussal időben kondingens módon társítottuk. A VL ingerbetörés 50-300 msec-al megelőzte az akcióspotencialokat kiváltó direkt ingerlést.

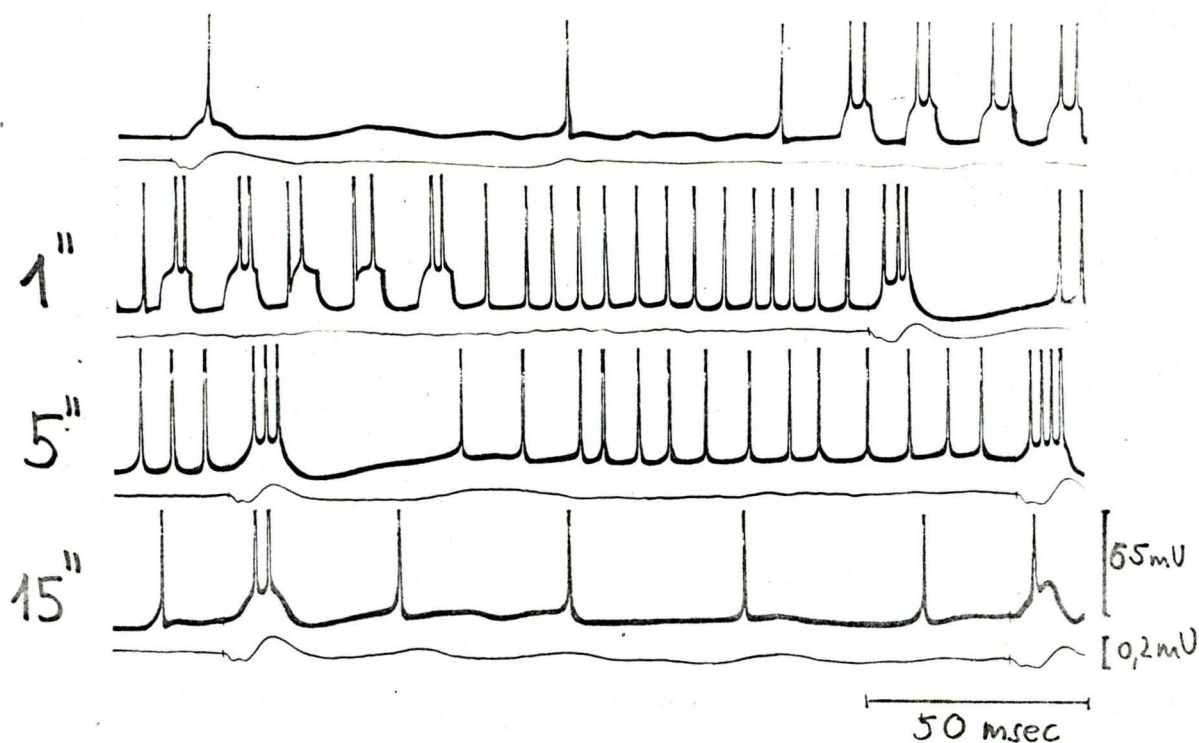
5-400 társítás után 0,1-2 cps társítási frekvenciák mellett 7 neuron közül egyetlen esetben sem tapasztaltunk plaszticitásra utaló jeleket.

Csak az időbeliségre nem specifikus, priming típusu kon-

dicionálással lehetett a VL EPSP-k plasztikus változásait előidézni.

Ezt szemléltetjük a 19. ábra neuronján / 65. sejt /, ahol az 1 cps VL ingerlésre kiváltódott EPSP-ből 20 msec latenciával akcióspotenciál keletkezett, melyet alig észrevehető IPSP követett. A neuron spontán tüzelési frekvenciája 2,5/sec volt 69 mV membránpotenciál mellett. Néhány teszt VL EPSP kiváltása után 2,5 nA erősségű depolarizáló árammal 15 cps frekvenciájú 25 msec szélességű, 40 tagból álló négyszögimpulzussorozat formájában kondicionáló ingerlést végeztünk. Tetanizálás közben a neuron membránpotenciálja 69 mV-ról 63 mV-ra csökkent és a tüzelési frekvencia 18 ± 2 /sec értékre emelkedett. A kondicionálás utáni szapora tüzelési periódusban adott VL ingerek EPSP komponenséből 3-4 tagú akcióspotenciál csoportok váltódtak ki, melyeket jól látható IPSP követett. A neuron tüzelési aktivitása a membrán depolarizációjával és a VL EPSP facilitációjával együtt fokozatosan csökkent majd 20 mp múlva a nyugalmi szintre tért vissza. Utána a neuron kismértékben hiperpolarizálódott. /3-4 mV/. Látható, hogy az időbeliségre nem specifikus, intracelluláris ingerléssel kiváltott akcióspotenciál sorozat a posztszinaptikus membrán elhúzó depolarizációját hozta létre, mellyel párhuzamosan a VL felől kiváltott posztszinaptikus válaszok facilitálódtak.

Amikor 1 cps VL ingerlést a depolarizáló négyszögimpulzussorozattal alkalmaztunk, a VL EPSP már a kondicionálás időtartama alatt jelentősen megnövekedett, majd az előzőekhez hasonlóan, az ingerlés után kialakult frek-



19. ábra: VL EPSP kondicionálása intracelluláris direkt ingerléssel. Nem PT neuron. Membránpotenciál 69 mV. A felső regisztrátumrészleten látható, hogy kondicionálás előtt VL ingerlésre akcióspotenciált kiváltó EPSP és alig észrevehető IPSP jelentkezik. 15 cps frekvenciájú 3,5 mp-ig tartó depolarizáció négyszögimpulzussorozat után a neuron alapaktivitása jelentősen felgyorsult / 2,5/sec 18,2/sec /. Ezzel párhuzamosan VL ingerlésre facilitálódott posztszinaptikus válasz jelent meg. A neuron alapaktivitása a VL kiváltott posztszinaptikus válasszal együtt mintegy 18-20 mp múlva depressziót mutat és a membrán hiperpolarizálódik.

vens tüzelési stádiumában is hatékony maradt. A neuron kondicionálását, négy esetben azonos eredménnyel megismételtük.

Egy másik, VL ingerlésre E-IPSP-vel válaszoló neuronunk / 62. sz. sejt / kondicionáló intracelluláris ingerlés után 5-7 mV-al hiperpolarizálódott a VL EPSP-k jelentékeny amplitúdónövekedése mellett / 200 % / míg az IPSP akcióspotenciálokat gátló hatása is megnövekedett / 60 → 140 msec /. Ujabb kondicionálások a membránpotenciál visszadepolarizálódása nélkül ismét létrehozták a VL EPSP facilitációját.

Ha intracelluláris direkt ingerlést 2 cps ingerléssel párhuzamosan végeztünk, a VL EPSP a 85. és 65. neuronokhoz hasonló potencirozódást mutatott.

A VL EPSP hatékonyságnövekedése a neuron esetében sem tartott 20 mp-nél tovább. A további három plasztikus viselkedést mutató neuronban az előzőhöz hasonlóan kondicionálás után / 2-25/sec 5-15 mp-ig / hiperpolarizálódott a membrán amellyel párhuzamosan a VL EPSP-k amplitúdónövekedése is mintegy 15-20 mp-ig tartott.

Egyes neuronok részletes leírásából látható, hogy a kondicionálások jellegzetes membránpotenciál változásokhoz vezetnek.

Plasztikus választ mutató neuronjaink közül 6 sejt esetében a kondicionáló ingerlést a membrán depolarizálódása, 5 sejt esetében hiperpolarizálódása követte és 3 neuron esetében nem változott a membránpotenciál.

A membránpotenciál változások lehetséges okait és jelen-

tőségét a Diszkusszió c. fejezetben elemezzük.

DISZKUSSZIÓ

A Bevezetés c. fejezetben részletesen ismertettük azokat a kutatási eredményeket, melyek az asszociatív tanulási folyamatok celluláris elméleteinek alapjául szolgálnak és amelyeket methodikai nehézségek miatt gerinctelen állatokon vagy egyszerűsített gerinces preparátumokon végeztek.

Azt is leirtuk, hogy agykérgi idegsejtek plaszticitási folyamataiban a szerzők posztszinaptikus változásokat tételveznek fel / Woody és mtsai 1973, 1976 / hasonlóan a hippocampus granulasejteken / Lomo 1971, Bliss és Lomo 1973, Bliss és Gardner-Medwin 1973, Alger és Teyler 1976, Dudek és mtsai 1976 /, gerincesek szimpatikus ganglionsejtjein / Schulman és Weight 1976, Weight és Erulkar 1976 / és Mollusca neuronokon / Kandel és Tauc 1966, Pusztai és Ádám 1974, Weiss és Kupfermann 1975 / megfigyelt plaszticitási folyamatokhoz.

Mégis számos részletes vizsgálaton alapulva a gerinctelen heteroszínaptikus facilitáció mechanizmusaként a preszínaptikus afferensek kölcsönhatásait tételvezik fel, mert nem tapasztaltak változást a posztszinaptiku neuron elektrofiziológiai jellemzőiben / Kandel és Tauc 1965, Baumgarten 1970, Shimahara és Tauc 1976 / a kondicionálás során.

A különböző gerinctelen idegrendszerekben megfigyelt plasztikus változások és a kérgi neuronokra vonatkozó szórványos kísérleti adatok ellentmondásosak.

Kísérleteink során minden esetben az a meggyőződés vezetett

bennünket, hogy a vizsgált neuron tulajdonságai és viselkedése kulcsfontosságú a kérgi plaszticitás folyamataiban. Tagadnánk a hatalmas és bonyolult szerveződésű dendritfával rendelkező kérgi neuronok integrációs tevékenységét és elemi biofizikai, biokémiai jellemzőinek fontosságát a plaszticitás kiépülésében, ha preszinaptikus afferensek kölcsönhatásairól beszélnénk.

Az általunk alkotott plaszticitási modell ellentétben áll a tanulásról és elemi információátvitelről alkotott olyan elképzelésekkel, melyek főleg a neuronális kölcsönhatások populációs szinten való tárgyalását helyezik előtérbe /neuronhálózati elképzelések, Kilmer és Mc. Culloch 1968, Marr 1970, Gardner-Medwin 1976 /. Ellentétben áll a holisztikus agyszimulációval / Rosenblatt 1962, John és mtsai 1972/ valamint a nem-neuronális automata, perceptron elmélettel / Minsky és Popert 1969 /.

A neuron elemi morfológiai és funkcionális tulajdonságait a plaszticitás folyamataiban éppen olyan fontosnak kell tekinteni, mint amilyen jelentős a PSP-k befutásával azonos időben történő integráló működése.

A neuron tüzelési mintázatának / output / megváltozása szempontjából a bemeneti jeleket két csoportra szükséges osztani: 1./ a kimeneten azonnal megjelenő akcióspotenciálokra illetve 2./ a kimeneten nem megjelenő PSP-k-re. Nyilvánvaló tehát, hogy a kondicionálás fogalmát csak a PSP-k-re vonatkoztatjuk, más szóval csak a PSP-k kondicionálódnak.

1./ VL EPSP-k kondicionálása PT és nem PT neuronokban a piramispálya 5-30 cps ingerlésével.

A piramissejtek antidróm aktiválásakor lejátszódó szómá-dendritikus inváziója a téspotenciál réteganalizisek / Humphrey 1968 /, extracelluláris / Rosenthal 1972 / és intracelluláris adatok szerint / Arikuni és Ochs 1973 / érinti a neuron szómáját és azokat a proximális dendritágakat, ahol a nagyhatékonyságú szinaptikus bemenetek elhelyezkednek. A specifikus thalamusmagvak végződéseit anatómiai leírások alapján az apikális dendrit centrális törzsén, a szómához közeli helyeken találjuk / Colonnier és Rossignol 1969, Szentágothai 1969, 1975 /. A gátlószinapszisok nagy sűrűségben fordulnak elő a szómán és mindkét típusu bemenetet / EPSP és IPSP / megtaláljuk kisebb sűrűségben a távolabbi, periférikus dendritágakon is / Gottlieb és Cowan 1972 /.

A PT neuronok anatómiai jellemzői jól illeszthetők az elektrofiziológiai megfigyelésekhez, mert pl: a VL kis intenzitású ingerlésére jelentkező elsődleges, monoszinaptikus EPSP komponens gyors emelkedési idő, rövid latencia, nagy amplitudó és rövid félérték szélesség jellemzi / forma index, Rall 1967 /. Igen jól szemléltetik ezt a 9. ábrán bemutatott gyors PT neuron gradált szinaptikus válaszai. A nem PT neuronok szinaptikus bemeneteire vonatkozóan szintén vannak anatómiai leírások / Tömböl 1967, Szentágothai 1975 / és a PSP-k lokalizációját becsülni lehet alakjuk a-



lapján. Messzemenő következtetéseket azonban az interneuronokra vonatkozóan nem vonhatunk le további részletes adatok hiánya miatt.

a./ PT_neuronok_VL_EPSP-inek_kondicionálása_antidró_m_akci-
óspotenciálsorozattal._

25 vizsgált sejt közül 7 neuron / 28 % / mutatott plasztikus változásokat a kondicionáló ingerlés után.

A kondicionálás hatása minden neuron esetén rövid ideig tartott / 30 mp / és nem befolyásolta az a körülmény, hogy a VL tesztimpulzusok után vagy azokkal egyidőben történt a kondicionáló ingerlés.

A VL EPSP facilitációja a 10. 29. 55. 58. neuronok esetén nem járt együtt a membránpotenciál és alapaktivitás megváltozásával. A VL EPSP átmeneti hatékonyság fokozódása a latencia és csúcslatencia csökkenésben valamint amplitúdónövekedésben mutatkozott. Mindhárom VL EPSP típus facilitálódását sikerült kimutatni.

Tónusos membránpotenciál változást és alapaktivitás változást tapasztaltunk az 56. / 8. ábra / 38. 89. neuronok esetében.

Érdekes, hogy a 38. neuron esetén az alapaktivitás és membránpotenciál változások melyek a VL EPSP hatékonyság fokozódásával jártak együtt, akkor is kialakultak ha VL-PT ingerpáros időben kontingens módon alkalmaztunk. Az alaptevékenység átmeneti aktivitásváltozása a PT kondicionáló ingerlés után kialakult komplex neuronválaszt tükrözi. A PT felől kiváltott antidró_m invázió mellett és annak hatását

maszkirozva aktiválódik a kérgi interneuron populáció, fokozódik a neuronra történő ingerületi konvergencia. Ezen utóbbi tónusos interneuron aktiválódás nem specifikus.

Ezt bizonyítja, hogy kondicionálás után nemcsak egyféle szinaptikus bemenet hatékonysága fokozódott szembetűnően, hanem valamennyi ingerlő bemeneté.

A kondicionálás hatásainak létrejöttében tehát kettős tényezővel kell számolnunk. Egyrészt átmeneti posztszinaptikus ingerlékenységváltozás történik mely a direkt antidróm invázió következménye. Feltehetően megváltoznak a PT neuronok intracelluláris integratív tulajdonságai. Ezt a változást nem tükrözi szükségszerűen a szóma bioelektromos paramétereinek változása / membránpotenciál, antidróm spike magasság stb. /

A 29. neuron esetén kizárható a posztszinaptikus eredetű hatékonyságfokozódás lehetősége.

Anatómiai adatok alapján / Colonnier és Rossignol 1969, Jones és Powell 1970, Szentágothai 1975 / ismeretes, hogy a specifikus thalamusmagvak PT neuronokon monoszinaptikusan végződő nyúlványain nincsenek más preszinaptikus, moduláló végzések. Ellentétben a gerincvelővel / Eccles 1964 / kóregre nem jellemző az episzinapszis.

A másik tényező mely befolyásolja az antidróm kondicionálás eredményét, az interneuronok aktiválódása a PT sejtek axonkollaterálisai által. Ebben az esetben bonyolult interneuronális történések eredője lesz a sejtek kondicionált intracelluláris aktivitása.

A posztszinaptikus / preszinaptikus / hatékonyságfokozódás

ellen szól az a tény, hogy viszonylag alacsony frekvenciájú kondicionáló ingerlést alkalmaztunk és a kondicionálódást nem követte az alaptevékenység depressziója mint PTP esetén.

Néhány esetben megfigyelhető volt, hogy a kondicionálódást 1-2 mp átmeneti depressziós fázis előzte meg. Ez a jelenség összefügg a frekvens kondicionáló ingerlés során aktiváló elektrogén Na^+ pumpa hiperpolarizáló hatásával / Koike és Mtsai 1970, 1972 /.

E neuroncsoport VL EPSP-inek kondicionált hatékonyság fokozódása celluláris szinten szenzitizációnak tekinthető, azaz nemspecifikus facilitálódásnak. Analóg a tanuláseméletben használt megfelelő kifejezéssel, vagy még inkább az álkondicionálás, illetve domináns fókusz kifejezéssel / Voronin 1976, Uhtomskij 1970 /.

Annak magyarázatára, hogy a neuron posztszinaptikus integratív tulajdonság változásainak mi lehet az oka, a jelenlegi kísérleti adatok nem elégségesek. Feltehetően a neuron membránstrukturájának olyan átrendeződéséről van szó, mely kapcsolatban van a posztszinaptikus neuron intracelluláris Ca^{++} akkumulációjával / Lux és Heyer 1975, 1976 a,b, Linnás és Hess 1976 /.

Érdekes probléma, hogy nem minden neuron "plasztikus" azaz nem minden neuron kondicionálható. Más megfigyelések arra utalnak, hogy a plasztikus neuronok száma legkisebb az agykéregben / 10 % körüli / és az ősbibb struktúrák felé haladva, rostrocaudális irányban növekszik a

kondicionálható sejtek száma / Morrell 1967, Bures és Buresova 1968, O'Brien és Fox 1969 a,b, Disterhoft és Olds 1972, Voronin 1976 /. A plasztikus sejtek számának csökkenése együtt jár számos modulálórendszer kifejlődésével így azok sokrétűbb funkcionális szerveződésre válnak alkalmassá.

b./ Interneuronok kondicionálása ortodróm akcióspotenciál sorozattal. Heteroszínaptikus facilitáció.

15 interneuron közül 3 esetben, a 80. 85. 44. számú neuronokon tapasztaltuk a VL EPSP heteroszínaptikus facilitációját / 20 % /. Mindhárom esetben a monoszínaptikus, rövid latenciaidejű VL EPSP facilitálódott a néhány másodperces kondicionáló akcióspotenciálsorozat után. E neuronok kondicionálása esetén sem volt lényeges, hogy a teszt VL EPSP-k kiváltása a kondicionáló ingerléssel egy időben, vagy azt megelőzően történt.

Mivel a feltételes kapcsolatok kialakulása esetén alapvetően fontos a szigorú időbeliség és a megerősítés / goal szituáció, Konorski 1948, Rescorla 1976, Voronin 1976 /. Ennélfogva e neuroncsoport " priming " kondicionálás után megjelenő válaszai is álkondicionálásnak, szenzitizációnak tekinthetők. A kondicionálás hatása valamivel tartósabbnak bizonyult mint az előző neuroncsoportok esetén és néhány-szor 10 mp-ig tartott. A 80. sz. neuronon a VL EPSP facilitációja a membrán depolarizációjával párhuzamosan változott de alaptevékenység fokozódása nélkül. Más neuronokon is megfigyeltek hasonló viselkedést melynek kapcsán bizo-

nyos EPSP-k a membrándepolarizáció esetén nem mutatnak amplitúdóredukciót. Ezen kívül az EPSP amplitúdója mely függ a membránkonduktanciától, hiperpolarizációra nem növekszik lineárisan. Indirekt kísérleti bizonyítékok arra utalnak, hogy az anomális rektifikáció főleg a dendritekre jellemző / Lux 1975 / valamint az extracelluláris tér Ca^{++} koncentrációjának növekedése csökkenti az anomális rektifikációt / Christ és Nishi 1973 /. A Ca^{++} extracelluláris mennyisége illetve posztszinaptikus intracelluláris akkumulációja összefügg a frekvens akcióspotenciál generálás kapcsán az extracelluláris térbe kilépő, lassú K^+ csatornákon keresztül történő K^+ transzporttal / Baker 1971, Barret és Crill 1974, Lux és Heyer 1975, Heyer és Lux 1976 a,b /. Ilyen módon az anomális rektifikáció, mely összefügg a posztszinaptikus intracelluláris Ca^{++} akkumulációval hozzájárulhat a VL EPSP hatékonyságfokozódásához. A 85. sz. neuronunk esetén ismét sikerült kimutatni, hogy a VL EPSP komponens facilitációja időben lényegesen túlhaladja kondicionáló PT-szinaptikus válasz potencirozódását, holott a PT ingerlés 30 cps és a VL ingerlés 6 cps frekvenciával történt. Ilyen módon a VL EPSP átmeneti hatékonyságfokozódása nem magyarázható a PT ingerlés posztetanus, preszinaptikus hatásaival / 13. ábra /.

2./ VL EPSP kondicionálása páros impulzusok időben kontingens társításával.

17 PT és interneuron közül 3 sejt mutatott / 38. 85. 77. sz.

neuronok/ sikeres kondicionálódást.

A neuronhálózati zavaró kölcsönhatások kiküszöbölésére és a teszt EPSP és kondicionáló akcióspotenciál közötti kölcsönhatás növelésére rövid / 50-150 msec / késleltetési időt alkalmaztunk. Ez összevethető a kérgi posztszinaptikus potenciálok időbeli viszonyaival.

Kondicionálódott neuronjaink közül két esetben / 85. 77. sejtek / a kondicionáló akcióspotenciál megelőzte és egy esetben / 38. sejt / követte a VL tesztimpulzust. Mindhárom esetben néhányszor 10 társításra volt szükség a VL EPSP hatékonyságfokozódásához.

Mindhárom esetben jellegzetes membránpotenciál változások alakultak ki, két neuron esetén depolarizáció / 85, 38. / és egy sejt esetén / 77. / hiperpolarizáció.

A membránpotenciál változások szerepét legjobban tudtuk elemezni a 77. 85. sejteken, ahol hálózati effektusok nem zavarták a kondicionálást. A 38. neuron PT antidróóm spike és EPSP valamint VL E-IPSP komplex válasz más közvetlenül figyelmenbe nem vehető interneuronális történéseket is magukba foglalnak.

A 85. és 77. neuronokban a társítások kezdetén olyan átmeneti membránpotenciál változások játszódtak le, melyek a társítások tovább folytatásával megszűntek és a sejtnek membránpotenciálja eredeti értékére tért vissza. A kondicionálódott VL EPSP azonban továbbra is facilitált maradt és akcióspotenciálokat váltott ki. A DC szintváltozások szerepe melyek bevezetik a kondicionálódást, nem ismeretes és átmeneti állapotváltozásnak tűnnek. Időtartamuk néhány-

szor 10 mp és hasonló intracelluláris változásokkal járnak mint ami az előző neuroncsoportok repetitív kondicionáló ingerlése után megfigyelhető. A VL EPSP hatékonyságfokozódása ugyanakkor lényegesen tovább, percekig elhúzódó hatásokat jelent.

Megengedhető feltételezés, hogy a kétféle kondicionálás a plaszticitás mechanizmusainak hierarchikus felépítését mutatja. A priming típusú kondicionáló ingerlés csak a plaszticitásnak azt az első fázisát aktiválja, mely néhányszor 10 mp-ig tartó változást jelent a neuron válaszaiban és együttjárhat membránpotenciál változásokkal. A társítások esetén a neuron túljut ezen az ún. stabilizációs fázison és sikeres kondicionálás esetén, a társítások bizonyos száma után semmiféle membránpotenciál változás vagy tüzelési aktivitásváltozás nem kíséri a kondicionált EPSP jelenlétét.

Az asszociatív tanulás celluláris analógjainak vizsgálatánál a legtöbb szerző kondicionálási módszert követett mely formailag megfelelt az éber állaton végzett legegyszerűbb tanulási helyzetnek / Baumgarten 1970, Woody és mtsai 1973, 1976, Voronin 1976 /.

Szigorú időbeliség mellett végezve a társításokat, a biológiailag erős hatású ingerület / US / mely a vizsgált neuronon is akcióspotenciálokat váltott ki, néhányszor 100 msec-al követte a kevésbé erős hatású, akcióspotenciálokat nem kiváltó feltételes ingert / CS /.

Az időbeli kontiguitás mellett végzett társítások eredményeként a feltételes inger egyedüli alkalmazása is a

neuronok tüzelési aktiválódását eredményezte egészen a kondicionált sejtválsz kialakulásáig.

A fenti feltételek figyelembevételével komplett kísérleteket végeztek, melyek magukba foglalták a szenzitizáció, kondicionálódás, extinció, újrakondicionálás és extinció valamint végleges szenzitizáció jelenségeit / Woody 1976, Roger és Galeano 1977 /.

Kérdéses, hogy az általunk celluláris szinten alkalmazott akcióspotenciál-EPSP kondicionálási sorrend hogyan tartalmazza a megerősítés szituációt és fiziológias körülmények között mi a szerepe, megfigyelhető-e?

Éber, intakt állat kondicionálásakor alkalmazott CS-US ingerlési sorrendet előrekondicionálásnak / forward / nevezük mely tartalmazza a megerősítési / goal / szituációt. A fordított irányú US-CS ingerlési sorrendet hátrafelé kondicionálásnak / backward / nevezük / Rescorla 1976/. Ha celluláris szinten az akcióspotenciált US-nek tekintjük, mivel a sejt impulzust küldhet a periféria felé és megjelenhet a válasz / pl: egyszerű reflexív efferens neuronja /, és a PSP-t mely nem vált ki tovaterjedő aktivitást a neuronon, feltételes ingernek nevezük / CS /, akkor formailag előállíthatjuk bármely kondicionálási módszer celluláris analógiáját.

Az EPSP-akcióspotenciált sorrendet alkalmazva előrekondicionálást és fordítva hátrafelé kondicionálást végzünk.

Kérdéses azonban, hogy a fentebb vázolt kép a tanulási folyamatokban univerzálisnak tekinthető celluláris értelmezése lenne / Rescorla 1976, : traditional studies of Pavlovian conditioning have explored only an extremely narrow range

of relations /.

Valószínű, hogy nem, mert a plasztikus változás a központi idegrendszer afferens és efferens neuronjai közti interneuronok hálózatában jön létre. Az interneuronok számának fejlődése egyenes arányban áll evolúciós szinten a tanulási képességekkel. Míg a leggyyszerűbb " plasztikus " reflexiv is poliszinaptikus neuronhálózat, melyben a szelektív stabilizáció elve alapján gyakorlással szelektálódik a legrövidebb latenciaidejű és legeredményesebb választ eredményező neuronhálózat, idegpálya / Woody és mtsai 1973 /.

Sok neuron működési átállása közül csak a legeredményesebbek alkotják a későbbiek során a plasztikus reflexivet.

A fenti okoknál fogva celluláris szinten nem alkalmazhatók egy az egyben az egész állatokon megfigyelt, az időbeliségre és az ingerek sorrendjére vonatkozó adatok.

Ha feltételezzük, hogy alkalmazhatók, akkor nehéz lenne megmagyarázni, hogy az egész állaton tapasztalt eredményes CS-US kondicionálási sorrendet celluláris szinten formailag helyesen végrehajtva miért csak a sejtek kis hányada mutatkozik " plasztikus " neuronnak.

Végigtekintve a szakirodalomban eddig közölt, celluláris szintet is érintő eredményeken azt tapasztaljuk, hogy sikeres kondicionálások esetén sem ismerték a plasztikus reflexiv pontos neuronhálózatát. Még gerinctelen preparátumokon sem!

Ismeretes, hogy *Aplysia* neuronokon az akcióspotenciál-EPSP ingerlési sorrendel nem lehetett kondicionálni míg fordít-

va lehetett / Baumgarten 1970 /. Ez a celluláris szintű eredmény formailag tökéletesen ellentmond a fenti állításainknak. Azonban több komoly szépséghibája van:

a./ nem ismert a heteroszínaptikus facilitációt létrehozó neuronhálózat. b./ Molluscákra nem jellemző az asszociatív tanulás képessége / Kandel 1974, Kupfermann 1975 / c./ a körte alakú, dendrit nélküli puhatestű neuronok plasztikus sajátosságai evolúciós okok miatt egészen mások lehetnek mint a bonyolult dendritfával rendelkező kérgi neuronoké.

Másik fontos problémakör a kondicionálás során, a késleltetési idő szerepe. Ez lehet egészen rövid, de nagyon hosszú is. Éber állatokon leghatékonyabbnak bizonyult az 500 msec-os késleltetés / Rescorla 1976, Gray 1976 /.

Nagyon rövid, 20-50 msec késleltetési időről számoltak be a piglogóhártyára vonatkozó kondicionálási kísérletekben / Gormezano 1965, 1972, Schneiderman és Gormezano 1964, Wickens és Mtsai 1969 /.

Nagyon hosszú időintervallumok, percek is előfordulhatnak pl: a Pavlovi nyálelválasztási kísérletekben.

Még egy nagyon fontos tényt kell megemlítenünk, nevezetesen azt, hogy egész állaton is lehet " backward " kondicionálást végezni, ahol az " goal-szituáció " , a megerősítés klasszikus felfogása értelmét veszti / Asratyan 1965, Razran 1971, Rescorla 1972, Rescorla és Wagner 1972 /.

A kondicionálások problémakörének fenti, talán kissé részletes kifejtését annak érdekében végeztük, hogy alátámasz-
szuk feltételezésünket, mely szerint celluláris szinten

nem az akcióspotenciál és EPSP sorrend fontos, hanem a társítások időbeliségének állandósága / az időbeliség változtatása a feltételes válasz kialakításához vezet /. Bizonyos, hogy nagyobb neuronpopulációt elemezve találunk volna olyan sejteket is , melyek EPSP-akcióspotenciál sorrenddel ingerelve is kondicionálódtak volna. Szépséghibája kísérleteinknek, hogy a kondicionált neuronokon fordított irányú ingerlést nem végeztünk.

Plasztikus neuronjaink esetén, pl: a 85. neuronon a monoszínaptikus VL EPSP kondicionálódott.

Ebben az esetben semmilyen preszínaptikus változás nem képzelhető el, mely a kondicionáló akcióspotenciál hatását valamilyen megelőző neuronra helyezné át / interneuron és episzínapszis nincs / A VL EPSP hatékonyságfokozódásához olyan posztszínaptikus változás vezetett mely az akcióspotenciál-VL EPSP intracelluláris hatásainak többszöri egybevetésckor állt elő.

A posztszínaptikus okokra utal az a megfigyelés is, hogy a megfelelő EPSP-k homoszínaptikus frekvenciapotecirozása után lényegesen hamarabb kialakult a válasz mint a társítások után. Másrészt több olyan neuront találtunk, amelyben az EPSP homoszínaptikus ingerlésre potencirozódott, azonban társítással nem lehetett kondicionálni.

3./ A VL EPSP-k kondicionálása intracelluláris direkt ingerléssel.

14 neuron közül 5 neuron mutatott plasztikus választ priming típusú ingerlésre míg társítás esetén 7 neuron közül

egyetlen esetben sem tudtunk eredményesen kondicionálni. A masszív, direkt úton kiváltott akcióspotenciálsorozat olyan DC-szinváltozáshoz vezetett mely együttjárt a VL EPSP átmeneti hatékonyságfokozódásával. A hatás néhány-szor 10 mp-ig tartott és függött az ingerlés paramétereitől.

A kondicionáló ingerlés egy neuron esetén depolarizációt és 4 neuron esetén hiperpolarizációt okozott. A depolarizációt a tüzelési aktivitás tartós depressziója követte amelyben a VL EPSP facilitációja sem mutatkozott.

A másik négy sejt esetén a VL EPSP amplitúdónövekedése és a hiperpolarizáció párhuzamosan történt.

A membránpotenciál változások ezen sejtek esetében meghatározták a VL EPSP facilitációját.

A neuroncsoport vizsgálata azt mutatta, hogy a posztszinaptikus membrán direkt elektromos ingerlése a VL EPSP-k membránpotenciálfüggő, átmeneti hatékonyságfokozódásához vezethet.

4./ VL EPSP-k kondicionálása frekvens, homoszinaptikus ingerléssel.

Mint a 89. sz. neuron elemzése során leírtuk, a fenti vizsgálatot 16 neuronon végeztük el. A repetitív, homoszinaptikus 2-20 cps ingerlések után tanulmányoztuk a VL EPSP változásait mely homoszinaptikus aktiváció eredménye.

Ismeretesek olyan irodalmi adatok, melyek motoros kérgi neuronok VL EPSP-inek frekvens / 10-20 cps / ingerlése néhány

másodperces átmeneti facilitációhoz vezethet / Purpura és mtsai 1964 /. Saját kísérleteinkben hasonló, alacsonyfrekvencián végzett ingerlés nem vezetett a VL EPSP hatékonyságfokozódásához.

Kísérleti eredményeink megerősítik azt a feltételezést, mely szerint a kérgi neuronok akcióspotenciálgenerálása valamilyen posztzinaptikus változáson keresztül fokozza a szinaptikus bemenetek hatékonyságát. Szükséges feltétel, hogy hatásaik időben átfedjék egymást.

Összefoglalás

Motoros kérgi idegsejtek kondicionált, plasztikus válasza-
it vizsgáltuk intracelluláris elvezetésben.

Piramissejtekben és interneuronokban elemi plaszticitási
modellek kiépítésével elemeztük a VL EPSP tartós, kondici-
onált hatékonyságfokozódásának celluláris folyamatait.

A plasztikus sejtválasz tanulmányozását a következő kísér-
leti elrendezésben sikerült megvalósítani:

a./ PT sejtek és interneuronok VL EPSP-inek kondicionálása
néhány másodperces 10-30 cps frekvenciájú antidróm vagy
szinaptikus akcióspotenciálsorozattal. A VL EPSP faci-
litációja néhányszor 10 mp-ig tartott és egyes esetek-
ben együttjárt a posztszinaptikus neuron membránpoten-
ciál és tüzelési frekvencia változásaival.

b./ PT sejtek és interneuronok VL EPSP-inek kondicionálása
antidróm vagy szinaptikus akcióspotenciál időben kon-
tingens társításával. A VL EPSP hatékonyságfokozódása
néhányszor 10 mp-től néhány percig tartott. Ezen ti-
pusú kondicionálás az asszociatív tanulási folyamatok
celluláris analógjának tekinthető. A kondicionálódás
bizonyos fázisai jellegzetes membránpotenciál és tüze-
lési aktivitásváltozásokkal járnak együtt.

c./PT sejtek és interneuronok direkt intracelluláris inger-
lése a teszt VL EPSP-k néhányszor 10 mp-es hatékonyság-
fokozódásához vezetett.

Következtetések:

- 1./ A fenti kísérletek alapján a kérgi idegsejtek asszociatív tanulási folyamatainak celluláris mechanizmusaként a heteroszínaptikus facilitációt tekintjük.
- 2./ A kérgi neuronok heteroszínaptikus hatékonyságfokozódásához szükséges és nélkülözhetetlen a posztszínaptikus neuron akcióspotenciál generálása.

Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom a JATE Összehasonlító Élettani Tanszék vezetőjének, Dr. Fehér Ottó professzor úrnak, hogy intézetében lehetőséget adott az értekezés elkészítéséhez és mindenkor figyelemmel kísérte munkámat. Köszönöm Vágvölgyi Anikó tanszéki laboráns munkáját aki értékes gyakorlati tevékenységgel segítette munkámat.

IRODALOM

1. ALGER, B.E., and TEYLER, T.J. Long-term and short-term plasticity in the CA₁, CA₃, and dentate regions of the rat hippocampal slice. Brain Res. 1976, 110: 463-480.
2. ANDERSEN, P., ANDERSSON, S.A., and LØMO, T. Nature of thalamocortical relations during spontaneous barbiturate spindle activity. J. Physiol. /Lond/. 1967 192: 283-307.
3. ANDERSEN, P., ANDERSSON, S.A. Physiological basis of the alpha rhythm. In: A. Towe /ed/. Appleton-Century-Crofts, New York. 1968. 235 p.
4. ANDERSEN, P., ANDERSSON, S.A. Thalamic origin of cortical rhythmic activity. In: Handbook of Electroencephalography and clinical neurophysiology. Vol. 2/c. pp: 90-118.
5. ARAKI, T., ENDO, K., SHIGENAGA, Y., KAWAI, Y., ITO, K. Three components of incrementing PSPs of pyramidal tract cells evoked by stimulation of thalamic nuclei. Brain Res. 1976, 113: 411-416.
6. ARAKI, T., and ENDO, K. Short-latency EPSPs of pyramidal tract cells evoked by stimulation of the centrum-medianum parafascicular complex and the nucleus ventralis anterior of the thalamus. Brain Res. 1976, 113: 405-410.
7. ARIKUNI, T., and OCHS, S. Slow depolarizing potentials and spike generation in pyramidal tract cells. J. of Neurophysiol. 1973, 36: 1-12.
8. ARMSTRONG, D.M. Synaptic excitation and inhibition of Betz cells by antidromic pyramidal volleys. J. Physiol. /Lond/. 1965, 178: 37-38 P.
9. ARMSTRONG, C.M., BEZANILLA, F. Charge movement associated with the opening and closing of the activation gates of the Na channels. J. Gen. Physiol. 1974, 63: 533-552.

10. ASANUMA, H., and BROOKS, V.B. Recurrent cortical effects following stimulation of internal capsule. Arch. Ital. Biol. 1965, 103: 220-246.
11. BAKER, P.F., HODGKIN, A.L., RIDGWAY, E.B. Depolarization and calcium entry in squid giant axon. J. Physiol. /Lond/. 218: 709-755.
12. BARRET, J.N., and CRILL, W.E. Specific membrane properties of cat motoneurons. J. Physiol. /Lond/. 1974, 239: 301-324.
13. BARRET, J.N., and CRILL, W.E. Influence of dendritic location and membrane properties on the effectiveness of synapses on cat motoneurons. J. Physiol. /Lond/. 1974, 234: 325-345.
14. BAUMGARTEN, R.V. Plasticity in the nervous ^{system} at the unitary level. In: The Neurosciences Second Study Program. Ed by F.O. Schmitt. New York, Rockefeller Univ. Press. 1970, pp. 260-271.
15. BLAKEMORE, C. Developmental factors in the formation of feature extracting neurons. In: The Neurosciences. Third Study Program. F.O. Schmitt and F.G. Worden /eds/. New York, Rockefeller Univ. Press. 1974, pp. 105-113.
16. BLISS, T.V.P., and BURNS, B.D., and UTTLEY, A.M. Factors affecting the conductivity of pathways in the cerebral cortex. J. Physiol. /Lond/. 1968, 195: 339-367.
17. BLISS, T.V.P., and LØMO, T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J. Physiol. /Lond/. 1973, 232: 331-356.
18. BLISS, T.V.P., and GARDNER-MEDWIN, A.R. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. J. Physiol. /Lond/. 1973, 232: 357-374.

19. BRANCHI, C.L., and MARTIN, A.R. Inhibition of Betz cell activity by thalamic and cortical stimulation. *J. Neurophysiol.* 1958, 21: 380-390.
20. BRINDLEY, F.R.S. The classification of modifiable synapses and their use in models for conditioning. *Proc. Roy. Soc. B.* 1967, 168: 361-376.
21. BROOKS, V.B., and ASANUMA, H. Recurrent cortical effects following stimulation of medullary pyramid. *Arch. Ital. Biol.* 1965, 103: 247-278.
22. BURES, J., and BURESOVA. Plastic changes of unit activity based on reinforcing properties of extracellular stimulation of single neurons. *J. Neurophysiol.* 1967, 30: 98-113.
23. BURKE, W. Neuronal models for conditioned reflex. *Nature*, 1966, 210: 269-271.
24. BURNS, B.D. The mammalian cerebral cortex. London, Edward Arnold Ltd. 1958.
25. BURROWS, M., and HOYLE, G., Neural mechanisms underlying behavior in the locust *Schistocerca gregaria*. *J. Neurobiol.* 1973, 4: 167-186.
26. CHANGEUX, J.P., and DAUCHIN, A. Selective stabilisation of developing synapses as a mechanism for the specification of neuronal networks. *Nature*. 1976, 264: 705-712.
27. CHRIST, D.D. and NISHII, S. Anomalous rectification of mammalian sympathetic ganglion cells. *Exp. Neurol.* 1973, 806-816.
28. COLONNIER, R., and ROSSIGNOL, S., Heterogeneity of the cerebral cortex. In: *Basic Mechanisms of Epilepsies*. Ed. by: H.H. Jasper, A.A. Ward, and A. Pope. Little, Brown and Co., Boston, Mass. 1969, pp. 29-40.
29. CREUTZFELDT, O.D., LUX, H.D., und NACIMIENTO, A.C. Intracelluläre reizung corticaler nervenzellen. *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 1964, 281: 129-151.

30. CREUTZFELDT, O.D., WATANABE, S. and LUX, H.D., Relations between EEG phenomena and potentials of single cortical cells. I. Evoked responses after thalamic and epicortical stimulation. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 1966, 20: 1-18.
31. CREUTZFELDT, O.D., WATANABE, S. and LUX, H.D., Relations between EEG phenomena and potentials of single cortical cells. II. Spontaneous and convulsoid activity. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 1966, 20: 19-37.
32. CREUTZFELDT, O.D., The neuronal generation of the EEG. In: *Handbook of Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. Ed: O.D. Creutzfeldt. Vol. 2/C. Elsevier. Amsterdam 1974.
33. CURTIS, D.R., and ECCLES, J.C. Synaptic action during and after repetitive stimulation. *J. Physiol. /Lond/*. 1960, 150: 374-389.
34. DOTY, R.W. Electrical stimulation of the brain in behavioral context. *Ann. Rev. Psychol.* 1969, 20: 289-320.
35. DUDEK, F.E., DEADWYLER, S.A., COTMAN, C.W., LYNCH, G. Intracellular responses from granule cell layer in slices of rat hippocampus perforant path synapse. *J. Neurophysiol.* 1976, 39: 384-393.
36. DUNN, A.J. The chemistry of learning and the formation of memory. In: *Molecular and Functional Neurobiology*. Ed. by W.H. Gispen. Elsevier Publ. Comp. Amsterdam. 1976, pp. 347-387.
37. ECCLES, J.C. *The Neurophysiological Basis of Mind*. Oxford, Clarendon Press. 1953.
38. ECCLES, J.C. *The physiology of synapses*. Berlin-Göttingen-Heidelberg, Springer-Verlag. 1964.
39. ECCLES, J.C. Possible synaptic mechanism subserving learning. In: *Brain and Human Behavior*. Karcmar, A.G. Eccles, J.C. /Eds/. Berlin, Springer-Verlag, 1972, pp. 39-61.

40. FAREL, P.B. Persistent increase in synaptic efficacy following a brief tetanus in isolated frog spinal cord. *Brain Res.* 1974. 66: 113-120.
41. FAREL, P.B., and THOMPSON, R.F. Habituation of a mono-synaptic response in frog spinal cord. Evidence for a presynaptic mechanisms. *J. Of. Neurophysiol.* 1976, 39: 661-667.
42. GARDNER-MEDWIN, A.R. Modifiable synapses necessary for learning. *Nature*, 1969, 223: 916-919.
43. GARDNER-MEDWIN, A.R. The recall of events through the learning of associations between their parts. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 1976, 194: 375-402.
44. GAZE, R.M., and KEATING, M.J. The visual system and " neuronal specificity ". *Nature* 1972, 237: 375-378.
45. GORMEZANO, I. Yoked comparisons of classical and instrumental conditioning of the eyelid response, and an addendum on " voluntary responders ". In: W.F. Prokasy, /ed/. *Classical Conditioning: A Symposium*. New York: Appleton-Century-Crofts. 1965.
46. GORMEZANO, I. Investigations of defense and reward conditioning in the rabbit. In: A.H. Black and W.F. Prokasy /eds/ *Classical Conditioning II*. New York Appleton-Century-Crofts. 1972.
47. GOTTLIEB, D.I., and COWAN, W.M. Distribution of axonal terminals containing spheroidal and flattened synaptic vesicles in hippocampus and dentate gyrus of rat and cat. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 1972, 129: 413-429.
48. GRAY, J.A. *Elements of a Two-Process Theory of Learning*. Academic. Press. London. 1975.
49. GREENGARD, P. Possible role for cyclic nucleotides and phosphorylated membrane proteins in postsynaptic actions of neurotransmitters. *Nature* 1976, 260: 101-108.

50. GRIFFITH, J.S. A theory of the nature of memory. *Nature* 1966, 211: 1160-1163.
51. GROSSMAN, R.G., CLARK, K., and WHITESIDE, L. The influence of thalamic stimulus parameters on primary and augmenting cortical intracellular potentials. *Brain Res.* 1967, 5: 273-288.
52. HEBB, D.O. *The Organization of Behavior*. Wiley Sons. New York. 1949.
53. HILLE, B. Gating in sodium channels of nerve. *Ann. Rev. Physiol.* 1976, 38: 139-152.
54. HORRIDGE, G.A. *Interneurons*. London, W.H. Freeman. 1968.
55. HUBBARD, J.F. The effect of use on the transmitter release mechanism at the mammalian neuromuscular junction. Prague: Czechoslovak Academy of Sciences. 1963.
56. HUBEL, D.H., and WIESEL, T.N. Binocular interaction in striate cortex of kittens reared with artificial squint. *J. Neurophysiol.* 1965, 28: 1029-1059.
57. HUMPHREY, D.R. Re-analysis of the antidromic cortical response. I. Potential evoked by stimulation of the isolated pyramidal tract. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 1968, 24: 116-124.
58. HUMPHREY, D.R. Re-analysis of the antidromic cortical response. II. On the contribution of cell discharge and PSPs to the evoked potentials. *Electroenceph. clin. Neurophysiol.* 1968, 25: 421-442.
59. JABBUR, S.J., and TOWE, A.L. Cortical excitation of neurons in dorsal column nuclei of cat, including and analysis of pathways. *J. Neurophysiol.* 1961, 24: 499-509.
60. JACKLET, J.W., and LUKOWIAK, K. Neural processes in habituation and sensitization in model system. In: *Progress in Neurobiology*. ed. by Korkut, G.A., and Phillis, J.W. 1975, 4: 1-56.

61. JASPER, H.H., and AJMONE MARSAN, C. A Stereotaxic Atlas of the Diencephalon of the Cat. Ottawa. The National Research Council of Canada. 1954.
62. JASPER, H.H., RICCI, G.F., DOANE, B. Patterns of cortical neuronal discharge during conditioned responses in monkeys. In: Neurological basis of behavior. I. A. Churchill Ltd. 1958.
63. JOHN, E.R., BARTLETT, F., SHIMOKOCHI, M., KLEINMAN, D. Neural readout from memory. J. Neurophysiol. 1973, 36: 893-924.
64. JONES, E.G., and POWELL, T.P.S. Electron microscopy of the somatic sensory cortex of the cat. I. Cell types and synaptic organization. Phil. Trans. B. 1970, 257: 1-11.
65. KAMEDA, K., NAGEL, R., and BROOKS, V.B. Some quantitative aspects of pyramidal collateral inhibition. J. of Neurophysiol. 1969, 32: 540-554.
66. KANDEL, E.R., and TAUC, L. Heterosynaptic facilitation in neurones of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. J. Physiol. /Lond/. 1965, 181: 1-27.
67. KANDEL, E.R., and TAUC, L. Mechanism of heterosynaptic facilitation in the giant cell of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. J. Physiol. /Lond/. 1965, 181: 28-47.
68. KANDEL, E.R., and TAUC, L. Anomalous rectification in the metacerebral giant cells and its consequences for synaptic transmission. J. Physiol. /Lond/. 1966, 183: 287-304.
69. KANDEL, E. R., An Invertebrate System for the Cellular the Analysis of Simple Behaviors and Their Modifications. In: The Neurosciences III. Study Program. F.O. Schmitt, F.G. Worden /Eds/. 1974, pp. 347-370.
70. KANDEL, E.R., and SPENCER, W.A. Cellular neurophysiological approaches to the study of learning. Physiol. Rev. 1968, 48: 65-134.

71. KATZ, B., MILEDI, R. The role of calcium in neuromuscular facilitation. *J. Physiol. /Lond/.* 1968, 195: 481-492.
72. KLEE, R.M., and OFFENLOCH, K. Postsynaptic potentials and spike patterns during augmenting responses in cat's motor cortex. *Science.* 1964, 143: 488-489.
73. KOIKE, H., OKADA, Y., and OSHIMA, T. Accomodative behavior of cat pyramidal tract cells investigated with intracellular injection of currents. *Exp. Brain. Res.* 1968, 5: 173-189.
74. KOIKE, H., OKADA, Y., and OSHIMA, T. Accomodative properties of fast and slow pyramidal tract cells and their modification by different levels of their membrane potential. *Exp. Brain Res.* 1968, 5: 189-201.
75. KOIKE, H., OKADA, Y., MANO, N., OSHIMA, T. Repetitive impulses generated in Fast and Slow pyramidal tract cells by intracellularly applied current steps. *Exp. Brain Res.* 1970, 11: 263-281.
76. KOIKE, H., MANO, N., OKADA, Y., OSHIMA, T. Activities of the sodium pump in cat pyramidal cells investigated with intracellular injection of sodium ions. *Exp. Brain Res.* 1972, 14: 449-462.
77. KONORSKI, J. *Conditioned Reflexes and Neuron Organization.* New York Cambridge Univ. Press. 1948.
78. JUNG, R., KORNHUBER, H.H., FONSECA, J.S. da: Multisensory convergence on cortical neurons. Neuronal effects of visual, acoustic and vestibular stimuli in the superior convolutions of the cat's cortex. In: *Progress in Brain Research. Vol. 1. Brain mechanisms* ed. by G. Momzzi, A. Fessard and H.H. Jasper Amsterdam: Elsevier Publ. Co. 1963. pp. 207-240.
79. KRNJEVIC, K., RANDIC, M., and STRAUGHAN, D.W. An inhibitory process in the cerebral cortex. *J. Physiol./Lond/.* 1966, 184: 16-48.

80. KRNJEVIC, K., RANDIC, M. and STRAUGHLAN, D.W. Nature of a cortical inhibitory process: J. Physiol. /Lond/. 1966, 184: 49-77.
81. KUPFERMANN, I. Neurophysiology of learning. Ann. Rev. Psychol. 1975, 26: 367-389.
82. LANDGREN, S., PHILLIPS, C.G., PORTER, R. Minimal synaptic actions of pyramidal impulses on some alpha motoneurons of the baboon's hand and forearm. J. Physiol. /Lond/. 1962, 161: 91-111.
83. LARRABEE, M.G., and BRONK. Prolonged facilitation of synaptic excitation in sympathetic ganglion. J. of Neurophysiol. 1947, 10: 139-154.
84. LI, C.L., Cortical intracellular synaptic potentials in response to thalamic stimulation. J. Cell. Comp. Physiol. 1963, 61: 165-179.
85. LILEY, A.W., and NORTH, K.A.K., An electrical investigation of effects of repetitive stimulation on mammalian neuromuscular junction. J. Neurophysiol. 1953, 16: 509-527.
86. LLINÁS and HESS, R. Tetrodotoxin-resistant dendritic spikes in avian Purkinje cells. Proc. Natl. Acad. Sci. / USU /. 1976, 73: 2520-2523.
87. LLOYD, D.P.C. Post-tetanic potentiation of response in monosynaptic reflex pathways of the spinal cord. J. Gen. Physiol. 1944, 33: 147-170.
88. LOMO, T. Potentiation of monosynaptic EPSPs in the perforant path-granule cell synapse. Expl. Brain Res. 1971, 12: 46-63.
89. LOMO, T., ROSENTHAL, J. Control of Ach sensitivity on muscle activity in the rat. J. Physiol. /Lond/. 1972, 221: 493-513.
90. LUX, H.D., NACIMIENTO, A.C., und CREUTZFELD, O.D. Gegenseitige beeinflussung von postsynaptischen potentialen corticaler nervenzellen nach reizen in unspezifischen und spezifischen kernen des thalamus. Pflügers Arch. ges. Physiol. 1964, 281: 170-180.

91. LUX, H.D., and SCHUBERT, P. Some Aspects of the Electroanatomy of Dendrites. In: Adv. in Neurology. Vol. 12. ed. by G.W. Kreutzberg, Raven Press, New York 1975, pp. 29-44.
92. LUX, H.D. and HEYER, C.B. Fast K^+ activity determinations during outward currents of the neuronal membrane of *Helix pomatia*. Bioelectrochem. Bioenerg. 1975, 3: 169-182.
93. LUX, H.D., and HEYER, C.B. /a/ Control of the delayed outward potassium currents in bursting pacemaker neurones of the snail, *Helix pomatia*. J. Physiol. /Lond/. 1976, 262: 349-382.
94. LUX, H.D., and HEYER, C.B. /b/ Properties of a facilitating calcium current in pace-maker neurones of the snail, *Helix pomatia*. J. Physiol. /Lond/. 1976, 262: 319-348.
95. MARR, D. A theory for cerebral neocortex. Proc. Roy. Soc. Lond. B. 1970, 176: 161-234.
96. MARTIN, A.R., and PILAR, G. Presynaptic and post-synaptic events during post-tetanic potentiation and facilitation in the axon ciliary ganglion. J. Physiol./Lond/. 1964, 175: 17-30.
97. MINSKY, M., PAPERT, S. Perceptrons. Cambridge, Mass. MIT. Press. 1969,
98. MORREL, F. Electrophysiological contributions to the neural basis of learning. Physiol. Rev, 1961, 41: 443-494.
99. MORREL, F. Electrical signs of sensory coding. in: The Neurosciences I. Res. Prog. Eds: Quarten G. Melnechuk, T., and Schmitt, F.O. Rockefeller Univ. Press. 1967, 452-469.
100. MPITSOS, G.J., and DAVIS, W.J. Learning: classical and avoidance conditioning in the mollusca *Pleurobranchaea*. Science. 1973, 180: 317-321.

101. NACIMIENTO, A.C., LUX, H.D. und CREUTZFELDT, O.D.
Postsynaptische potentiale an corticalen nervenzellen nach reizung spezifischer und unspezifischer thalamuskern. Pflügers. Arc. ges. Physiol. 1964, 281: 152-169.
102. NELSON, P.G., and FRANK, K. Anomalous rectification in cat spinal motoneurons and effect of polarizing currents on excitatory postsynaptic potential. J. of Neurophysiol. 1967, 30: 1097-1113.
103. NIEOULLON, A., and RISPAL-PADEL, L. Somatopic localization in cat motor cortex. Brain Res. 1976, 105: 405-422.
104. O'BRIEN, J.H., PACKHAM, C.S., and BRUNN HOELZL, W.W. Features of spike Train Related to Learning. J. Neurophysiol. 1973, 36: 1051-1061.
105. O'BRIEN, J.H., and FOX, S.S. Single-cell activity in cat motor cortex. Modification during classical conditioning procedures. J. Neurophysiol. 1969, 32: 267-296.
106. OLDS, J., DIESTERHOFT, J.F., SEGAL, H., CAROL, L.K., HIRSH, R. Learning centers rat brain mapped by measuring latencies of conditioned unit responses. J. Neurophysiol. 1972, 35: 202-219.
107. OSHIMA, T. Studies of pyramidal tract cells. In: Basic Mechanisms of Epilepsies. Eds. by: H.H. Jasper, A.A. Ward and A. Pope. Little, Brown and Co. Boston. Mass. 1969, pp. 253-261.
108. PHILLIPS, C.G. Intracellular records from Betz cells in the cat. Q.J. exp. Physiol. 1956, 41: 58-69.
109. PHILLIPS C.G. Actions of antidromic pyramidal volleys of single Betz cells in the cat. Q.J. exp. Physiol. 1959, 44: 1-26.
110. PINSKER, H., and E.R. KANDEL., Contingent modification of an endogenous bursting rhythm by monosynaptic inhibition. Physiologist. 1967, 10: 279.

111. PORTER, R. Early facilitation at corticomotoneuronal synapses. *J. Physiol. /Lond./*. 1970, 207: 733-745.
112. PURPURA, D.P., and SHOFTER, J.R. Cortical intracellular synaptic potentials during augmenting and recruiting responses. Effects of injected hyperpolarizing currents on evoked membrane potential changes. *J. Neurophysiol.* 1964, 27: 117-132.
113. PURPURA, D.P., SHOFTER, J.R., and MUSGRAVE, F.S. Cortical intracellular potentials during augmenting and recruiting responses. Patterns of synaptic activities in pyramidal and nonpyramidal tract neurons. *J. Neurophysiol.* 1964, 27: 133-154.
114. PURPURA, D.P., SHOFTER, J.R., and SCARFF, T. Properties of synaptic activities and spike potentials of neurons in immature neocortex. *J. Neurophysiol.* 1965, 28: 925-943.
115. PUSZTAI J., and ÁDÁM G. Learning phenomena in the giant neurons of the snail */Helix pomatia/*. *Comp. Biochem. Physiol.* 1974, 47: 165-171.
116. RALL, W. Distinguishing theoretical synaptic potentials computed for different soma-dendritic distributions of synaptic input. *J. Neurophysiol.* 1967, 30: 1138-1168.
117. RAZRAN, G. *Mind in Evolution*. Houghton Mifflin. Boston. 1971.
118. RESCORLA, R.A. Informational variables in Pavlovian conditioning. In: *The Psychology of Learning and Motivation*. Ed. by Bower, C.H. Vol. 6. Academic Press. New York-London. 1972, pp. 1-46.
119. RESCORLA, R.A., and HOLLAND, P.C. Some Behavioral Approaches to the Study of Learning. In: *Neural Mechanisms of Learning and Memory*. Eds: Rosenzweig, M.R., and Bennett. The MIT Press. Cambridge-Massachusetts and London. 1976, pp. 165-192.

120. RESCORLA, R.A., and WAGNER, A.R. A theory of Pavlovi-
an conditioning: variation in the effectiveness of
reinforcement and nonreinforcement. In: Classical
Conditioning II. Current Research and Theory. Eds:
Black, A.H., and Prokasy, W.F. Appleton-Century
-Crofts, New York. 1972, 64-99.
121. SCHNEIDERMAN, N., and GORMEZANO, I. Conditioning of
the nictitating membrane of the rabbit as a func-
tion of CS-US interval. J. of Comparative and Phy-
siol. Psychology. 1964, 57: 188-195.
122. SHIMAHARA, T., and TAUC. Heterosynaptic facilitation
in the giant cell of Aplysia. J. Physiol /Lond/.
1975, 247: 321-341.
123. SHIMBEL, A. Contribution to the mathematical biophi-
sics of the central nervous system with special refe-
rence to learning. Bull. Math. Biophysics. 1950, 12:
241-275.
124. SCHULMAN, J.A., and WEIGHT, F.F. Synaptic transmission:
Long-Lasting Potetiation by a Postsynaptic Mechanism
Science. 1976, 194: 1437-1439.
125. SKREBITSKY, V.G., and RUSINOVA, E.V. Plastic changes in
reactivity of cortical neurones. Zh. Vyssh. Nerv.
Deiat. 1973, 23: 576-584.
126. SKREBITSKY, V.G., and CHEPKOVA. The role of time inter-
vals between "conditioned" and "unconditioned" sti-
muli in elaboration of neuronal analogs of conditio-
ned reflex. Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. 1973, 23:
576-584.
127. SMITH, B.H., and KREUTZBERG, G.W. Neuron-target cell
interactions. Neurosci. Res. Progr. Bull. 1976,
14/3: 336-349.
128. SPERRY, R.W. Selective communication in nerve nets. Im-
pulse specificity vs. connection specificity. Neuro-
sci. Res. Progr. Bull. 1965, 3/5: 37-43.



129. ROGER, M., and GALEANO, C. Activity of the crayfish caudal photoreceptor submitted to a conditioning paradigm. *Brain Res.* 1977, 24: 449-456.
130. ROSENBLATT, F. Principles of neurodynamics. Spartan, Washington. 1962.
131. ROSENTHAL, F. Extracellular potential fields of single PT-neurons. *Brain Res.* 1972, 36: 251-263.
132. STEFANIS, C., and JASPER, H. Intracellular microelectrode studies of antidromic responses in cortical pyramidal tract neurons. *J. Neurophysiol.* 1964, 27: 828-854.
133. STEFANIS, C., and JASPER, H. Recurrent collateral inhibition in pyramidal tract neurons. *J. Neurophysiol.* 1964, 27: 855-878.
134. STEPIEENS, C.L. Progressive decrements in the activity of Aplysia neurons following repeated intracellular stimulation: implication for habituation. *J. Exp. Biol.* 1973, 58: 411-421.
135. STENT, G.S. A physiological mechanism for Hebb's postulate learning. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1973, 70: 997-1001.
136. SZENTÁGOTHAJ, J. The "module-concept" in Cerebral cortex architecture. *Brain Res.* 1975, 95: 475-496.
137. SZILARD, L. On memory and recall. *Proc. nat. Acad. Sci. /Wash./* 1964, 51: 1092-1099.
138. TAKAHASHI, K. Slow and fast group of pyramidal tract cell and their respective membrane properties. *J. Neurophysiol.* 1965, 27: 908-924.
139. TAKASHI, K., KUBOTA, K., and UNO, M. Recurrent facilitation in cat pyramidal tract cells. *J. Neurophysiol.* 1967, 30: 22-34.
140. THOMPSON, R.F., PATTERSON, M.M., and TEYLLER, T.J. Neurophysiology of learning. *Ann. Rev. Psychol.* 1972, 23: 73-104.

141. TOWE, A.L., PATTON, H.D., and KENNEDY, T.T. Properties of the pyramidal system in the cat. *Exp. Neurol.* 1963, 8: 220-238.
142. TÖMBÖL THERESE. Short neurons and their synaptic relations in the specific thalamic nuclei. *Brain Res.* 1967, 3: 307.
143. VORONIN, L.L. Changes in the excitability of individual neurons after electrical stimulation of the cortical surface. *Dokl. Akad. Nauk. SSSR.* 1969, 186/5: 1213-1216.
144. VORONIN, L.L., and IOFFE, S.V. Changes in unit postsynaptic responses at sensorymotor cortex with conditioning. *Acta. Neurobiol. Exp. /Warsawa/.* 1974, 34: 505-523.
145. VORONIN, L.L. Microelectrode study of neurophysiological mechanisms of conditioning. *Soviet Research Reports. 2.* Ed by: Woody C.D. Brain Information Service. U.C.L.A. Los Angeles. 1976.
146. WEIGHT, F.F. Physiological mechanisms of synaptic modulation. In: *The Neurosciences III. Study program.* Eds: Schmitt, F.O., and Worden, F.G. New York. Rockefeller Univ. Press. pp. 921-941.
147. WEIGHT, F.F., and ERULKAR, S.D. Modulation of synaptic transmitter release by repetitive postsynaptic action potentials. *Science.* 1976, 194: 1023-1025.
148. WEISS, K.R., and KUPFERMANN, I. Homology of the giant serotonergic neurons / metacerebral cells / in *Aplysia* and pulmonate molluscs. *Brain Res.* 1976, 117: 33-49.
149. WICKENS, D.D., NIELD, A.F., TUBER, D.S. and WICKENS, C.D. Strength latency and form of conditioned skeletal and autonomic responses as a function of CS-US intervals. *J. of Exp. Physiology.* 1969, 80: 165-170.



150. WOODY, C.D., and BLACK-CLEWORTH, P. Differences of cortical neurons as a function of motor projection in conditioned cats. *J. Neurophysiol.* 1973, 36: 1104-1115.
151. WOODY, C.D., BUERGER, A.A., UNGAR, R.A., LEVINE, D.S. Modeling aspects of learning by altering biophysical properties of a stimulated neuron. *Biol. Cybernetics.* 1976, 23: 73-82.
152. WRBOVA, G., and WAREHAM, A.C. Effects of nerve activity on the postsynaptic membrane of skeletal muscle. *Brain Res.* 1976, 118: 371-382.
153. WURTZ, R.H. CASTELLUCCI, F.V., and NUSRALA, J.M. Synaptic plasticity: the effect of the action potential in the postsynaptic neuron. *Exp. Neurol.* 1967, 18: 350-368.
154. YOUNG, J.Z. Growth and plasticity in the nervous system. *Proc. Roy. Soc. B.* 1951, 139: 18-37.