

TANULÁS AZ IDEGSEJT SZINTJÉN

FEHÉR OTTÓ

JATE Összehasonlító Élettani Tanszéke, Szeged

Az idegrendszer a faj és az egyén specifikumát legmélyebben kifejező, legmagasabb szinten tartalmazó szerv. Nem véletlen, hogy a filogenezisben folytonosan növekvő jelentősége van s mind fontosabbá válik a faj és egyén fennmaradásáért, specifikus tulajdonságainak megőrzéséért felelős struktúrák között. Az idegrendszer működési kapacitásának növekedése, mely mind a filogenezisben, mind az ontogenezisben megfigyelhető, sok területen nyilvánul meg. A receptor funkció fejlődésével párhuzamosan a külső és belső környezetet egyre mélyebben és teljesebben tükrözi. Az egyszerű leképezésen túl, emberben ez a logikai mélység hallatlan fokozatait éri el. Ebből ered az idegrendszer által kidolgozott válaszreakciók bonyolultságának fokozódása, az adaptív működések tökéletesedése. Az idegrendszer saját működését regisztráló, ellenőrző, a tudat anyagi szubsztrátumaként szereplő magasabb struktúrák hierarchiája kiépül és az emberi idegrendszer legspecifikusabb vonásává válik. Az idegrendszer működési kapacitása összes előzőkben felsorolt aspektusának megvalósulásában fontos szerepet játszik az emlénytómképzés funkciója, a memória, mely a tanulás folyamata révén gazdagítja a rendszer működését. Sok okát lehetne felsorolni annak, hogy e funkció miért vonzza a neurobiológusok figyelmét különös erővel. Tény, hogy az emlénytómképződés ma az egyik legintenzívebben tanulmányozott téma a neurobiológiában s ez jelentős részben abból adódik, hogy más szakmák kutatói: matematikusok, fizikusok, kémikusok, kibernetikusok egyre nagyobb számban csatlakoznak s próbálják ki ideáikat, tehetségüket ezen az izgalmas területen, az ember önmegismerésének e hallatlanul fontos állomásain.

Mi a tanulás? Mielőtt erre vonatkozó saját meghatározásunkat kifejtenénk, le kell szögeznünk, hogy a tanulás az *egész* szervezet funkciója, melyet még az idegrendszerre sem lehet teljes mértékben leszűkíteni: abban a szervezet minden részének megvan a saját részesedése, de nem tagadhatjuk az idegrendszer központi szerepét. *A tanulás új magatartási formák, új, azelőtt nem létező idegi kapcsolási mechanizmusok létrejövedele a külső és belső környezet hatásai és a rendszer saját szintetizáló működése révén.*

Az emlénytómképződés, tanulás jelenségei emberen és állaton legtöbbször nyilvánvalók és jól tanulmányozhatók. A neurobiológusok és pszichológusok

gusok az analízis igen széles skáláját alkalmazzák több mint egy évszázada mechanizmusának, részleteinek megismerésére. A tudománytörténet ezen érdekes ágának csak vázlatos ismertetése is órákat venne igénybe, ezért itt csak néhány, a jelenlegi kutatást is elősegítő tanulságára fogok kitérni.

A tanulás kutatásának egész történetén végighúzódik az az általános összefüggés, hogy az analízis módszerei, mélysége, eredményei mindig függtek az idegrendszerrel rendelkezésre álló ismeretek egészének aktuális mennyiségétől és színvonalától. A behavioristák és Pavlov munkássága idején az idegrendszer makroszkópiája, fénymikroszkópos hisztológiája, legalapvetőbb pályarendszerei voltak ismertek, de tisztázatlan volt a neuronok közötti kapcsolat természete, a neuron működésének lényege, nem volt módszer az idegi, különösen a komplex idegműködések vizsgálatára. Nem létezett az idegrendszer kémiai, fejlődéstana embrionális állapotban volt. Ebben a korszakban játszódott le a minden tudomány történetében döntő átmenet a pusztá megfigyelés stádiumából a kísérletes analízis korszakába. Ami ekkor a működő idegrendszerrel objektív adatokat szolgáltatott, a magatartás volt, beleértve néhány megfigyelhető vegetatív funkciót. Ami az egyszerű megfigyelést a kísérletes analízis fokára emelte, az Pavlov ma is élő ideája volt: meghatározott magatartási válaszokat előidéző ingerek olyan időben kontiguus társítása, ami lehetővé teszi azok központi idegrendszeri hatásainak kölcsönhatásba lépését. Az ingerek újszerű társítása az ingerek és a magatartási elemek újszerű asszociációját eredményezte. Az állat tanult, mert addigi válasz-repertoárja új szerzeménnyel egészült ki. Pavlov zsenialitása (s egyben a tudomány nagy szerencséje), hogy rögtön az első kísérleti megközelítésben rátapintott a tanulási folyamat leglényegesebb mechanizmusára, az *asszociáció* folyamatára. Az idegrendszer legplasztikusabb struktúrájának, az agykéregnek tulajdonsága az, hogy képes az egyes alrendszerek időben egybeeső ingerületét olymódon összekapcsolni, hogy azok később egymás számára kölcsönösen az inger forrásául szolgálhatnak. Az új inger-válasz szekvenciák tehát mindig már meglévő ingerületi minták társulásából, asszociációjából, gyakran bonyolult kombinációiból adódnak. Aki fel akarja deríteni a tanulás hogyanját, annak az asszociatív működés rejtvényét kell megoldania. Az asszociatív jelleg nem kísérleti műtermék, nem egy kísérleti paradigma önkényes általánosítása, hanem a tanulási folyamat rendszer- és sejtszinten egyaránt manifesztálódó alapvető folyamata.

Az idegrendszer működése során előálló elektromos feszültségingadozások regisztrálása, az elektroencefalográfia, elektrokontikográfia és később az egyes sejtekről történő elvezetések új lendületet adtak a tanulás vizsgálatának. A fő kérdés továbbra is az maradt, hogy a létrejövő új inger-válasz szekvenciák *hol* és *milyen módon* jönnek létre, az előbb felsorolt módszerekkel felderített „normális” elektromos aktivitás hogyan változik meg tanulás közben, s a felismert változások hogyan kapcsolódnak egy-egy magatartási aktus-

hoz. Az enkefalográfia és kortikográfiás vizsgálatok sok információt adtak az ingerületi és gátlási folyamatok dinamikájáról tanulás alatt az agykéregben és a kéregalatti struktúrákban.

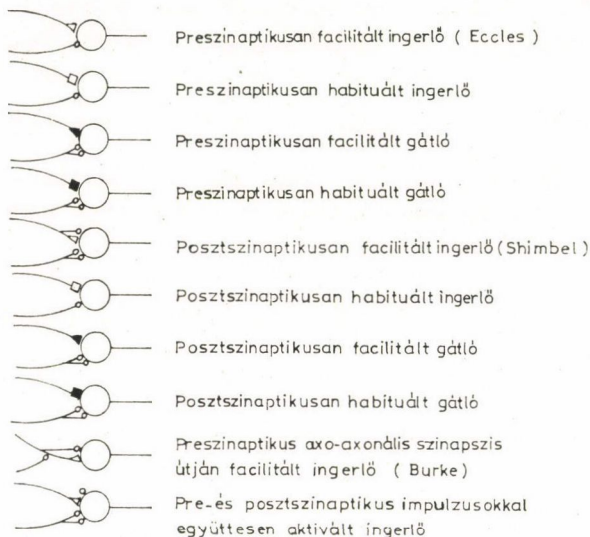
A kutatás e fázisából ki kell emelnünk ÁDÁM professzor és munkatársai eredményeit (1). Ők lényegében a mienkhez hasonló társítási paradigma alkalmazásával bizonyították, hogy az agykéregben, thalamusban, közepagi formatio reticularisban feltételes kiváltott potenciálok építhetők ki, melyek rendelkeznek a magatartási szinten kiépíthető feltételes reflexválasz legtöbb tulajdonságával. Figyelemreméltó, s ez a későbbiekben igen fontosnak bizonyul, hogy a feltételes válasz rögzülésének mechanizmusaként nem a reverberációs aktivitást, hanem a szinaptikus áttevődés módosulásait helyezik előtérbe.

Az idézett és valamennyi más kísérlet által bizonyított labilitás, plaszticitás tényei mellett mint fő tapasztalat az emelhető ki, hogy minden új, ha még oly egyszerű kondicionált válasz kiépülése is, kiterjedt agyi területeket hoz működésbe. Az extracelluláris mikroelektrod lényegében igazolta és pontosította ezeket a megállapításokat. Arra nézve azonban, hogy hol és hogyan következnek be módosulások az idegrendszer bonyolult hálózatában, egyik módszer sem tudott választ adni; teljesítményük csupán arra terjedt ki, hogy a módosulás tényét nagyobb vagy kisebb sejtcsoportok aktivitásán bemutassák. Az analízis módszereinek tovább kellett mélyülnie ahhoz, hogy a kulcskérdések megoldásának útjára léphessünk. Új működési elveket kellett felderíteni, melyek a tanulásért felelős bonyolult és plasztikus struktúrák specifikumát képezik, de válaszra várt az is, hogy az ősből idegi szerkezetekben érvényesülő működési elvek, a szummáció, a facilitáció, szomatotopia, az ingerület és gátlás strukturált viszonya, a reflex elv, a visszajelentés elve hogyan érvényesül e magasabb struktúrákban.

Abból a gondolatból kiindulva, hogy sohasem egyes sejtek, hanem mindig hálózat tanul, a tanulás teoretikusai régen foglalkoznak olyan hálózatok szerkesztésével melyek az őket érő impulzusok, ill. impulzuskombinációk nyomait megőrzik. Kézenfekvő, hogy egy olyan hálózat, amely nem rendelkezik elkülönített memóriával (mint pl. a számítógépek), csupán az *elemei közötti viszony megváltoztatása* révén képes ingertől függő „plasztikus” módosulásokra. Idegrendszerben ez a szinaptikus hatások módosulását, az ingerületnek új pályákra terelődését jelenti. A szinaptikus módosulásoknak, mint azt BRINDLEY (7) (1. ábra) elméleti megfontolásai alapján elfogadhatjuk, tíz változata lehetséges. Ezek feloszthatók preszinaptikus, posztzinaptikus, homo- és heteroszínaptikus, facilitálódó és gátlódó változatokra. Maga BRINDLEY, majd GARDNER—MEDWIN (10) és GRIFFITH (11) meggyőzően bizonyítják azonban, hogy *de novo* tanulás csak olyan hálózatokban lehetséges, melyekben legalább egy heteroszínaptikus úton posztzinaptikusan facilitált vagy gátolt szinapszis van. Homoszínaptikus úton vagy preszinaptikus lokalizációval módo-

suló szinapszisok csak valamely latens formában már meglevő pálya aktiválásához elégségesek, de novo tanuláshoz nem.

Ha egy fiziológus kísérleti úton kívánja ellenőrizni ezeket a hipotéziseket, olyan módszert kell választania, mely a szinapszisban lejátszódó finomabb funkcionális módosulások detektálására alkalmas. Jelenlegi eszköztárunkban egyetlen ilyen metodika van : az intracelluláris elvezetés. A makroelektród és az extracelluláris mikroelektród a különböző szinapszisok ezreinek-százezzeinek egymással interferáló, analízisre kevésbé alkalmas tömegjelenségeit tük-



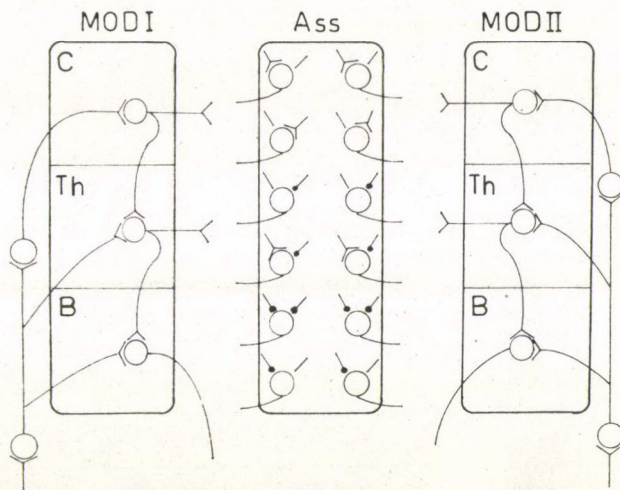
I. ábra. A tanuló hálózatokban elvileg lehetséges modifikálható szinapszisok típusai BRINDLEY [7] szerint. Közülük eddig a preszinaptikusan facilitálódó ingerlőt, a posztzinaptikusan facilitálódó gátlót és a pre- és posztzinaptikusan facilitálódó ingerlő típusút sikerült megtalálni az idegrendszerben

rözi. Ennek ellenére, mint látni fogjuk a tanulás mechanizmusának felderítéséhez értékes adatokkal járultak hozzá.

A következőkben az emlényomképződés mechanizmusának egy kísérletes megközelítési módját szeretném vázolni, melyben egyszersmind kísérletet teszek arra, hogy az összefüggéseknek az idegrendszer egészétől — mint makrorendszertől — a szinapszisig vezető láncolatát bemutassam, rávilágítva a rész és egész egymástól elválaszthatatlan dialektikus egységére, melynek figyelembevétele nélkül nincs az analízis lehetőségeit kihasználó reális szintézis.

Vegyük a klasszikus vagy I. típusú kondicionálás egy esetét (2. ábra). Az afferens ingerek az egyik reflexíven keresztül kiváltanak egy automatikus feltétlen választ. Ugyanakkor eljutnak a thalamikus és elsődleges kérgi központokba is, melyek a választ különböző módon és mértékben modulálhatják. Lényeges, hogy a két reflexív egymástól függetlenül működik. Mind thala-

mikus, mind kortikális szinten azonban van egy sejtpopuláció, melyre a thalamikus és kérgi elsődleges központok felől konvergálnak az ingerületi pályák, mindkét modalitás irányából. Ezen ún. *poliszenzoros vagy asszociációs mezők* (ide számítható a mozgató mező is) eltérően a primer areáktól szomatotopikusan nem rendezettek, de sok bennük a két-három modalitás által befolyásolt (ingerelt vagy gátolt) változékonnyá válasszintát mutató sejt. A rájuk irányuló szinaptikus hatások erőssége is igen különböző lehet: egyesek akciós potenciált, mások ingerlő vagy gátló posztszinaptikus potenciálokat keltenek rajtuk.

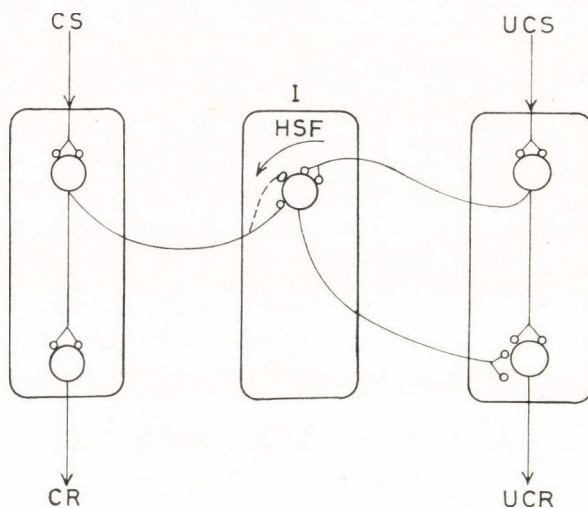


2. ábra. A reflexívek hierarchikus felépítésének és az agykérgi elsődleges és asszociációs areák vázlata. Mod I és Mod II: két különböző modalitású ingerre működésbe lépő reflexív. Ass: asszociációs struktúrák. B: bulbaris, Th: thalamikus, C: corticalis szint. —: akciós potenciált, —: EPSP-t kiváltó, —●: gátló szinapszis. Az Ass areáról kilépő axonok az egyik reflexív efferens szárahoz csatlakoznak

Kimenetük szintén igen változatos lehet. Rajzunkon csak a két legfontosabb efferens pályát tüntettük fel: azokat, amelyek az egyik vagy a másik efferens reflexpályába lépnek be. Természetesen lehetnek olyanok is, melyek mindkét reflexívet befolyásolják. A bemenet és kimenet, a szinaptikus hatások szempontjából ez a populáció statisztikusan erősen megoszló, labilis sejtállomány, melynek membránján a heteroszinaptikus facilitáció (HSF) számára tág lehetőségek nyílnak (3. ábra). Ha például az egyik modalitás felől csúcspotenciál, a másik felől EPSP keltődik, akkor e két inger időben kapcsolt beérkezése esetén, a gyengébb szinapszis HSF révén megerősödik s e neuron axonja új pályát nyit az ingerület számára. Ily módon az I. ingermodalitás ingerré válik a II. reflexpálya végrehajtó szervei számára is. A befutó ingertömeg természetesen módosítja a többi neuron aktivitását is, a kiindulási paramétereiktől függően különböző módon. Az asszociatív area így átstrukturálódik s bizo-

nyosra vehető, hogy az idegrendszerben egy ilyen egyszerű kondicionálás során is sokkal több változás történik, mint ami a magatartásban megnyilvánul, vagy amit a kísérletező elérni szándékozik.

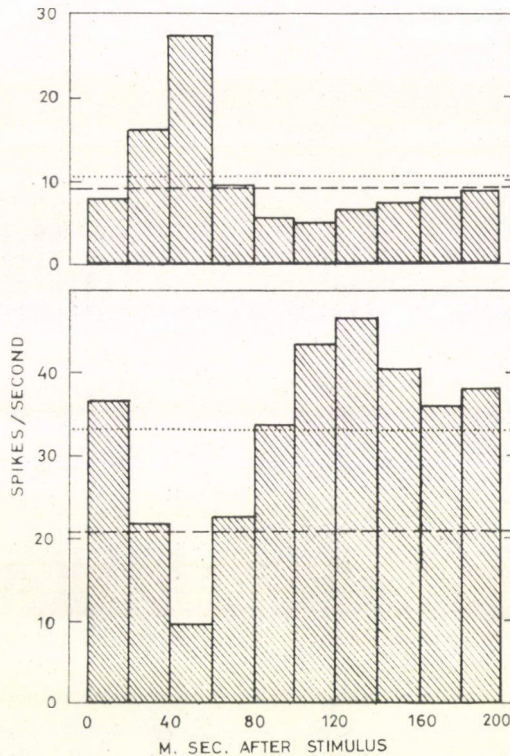
Felmerül mármost a kérdés, hogy az idegrendszer reális körülményei között léteznek-e ezek a struktúrák, sejtpopulációk és kölcsönhatások, amelyeket ez a nagyon egyszerű séma feltételez, s vizsgálhatók-e kísérletes módszerekkel?



3. ábra. A heteroszínaptikus facilitáció (HSF) kialakulásának vázlata és szerepe új ingerületi pályák kialakulásában. Az I mezőben levő idegsejt időbeli kontiguitásban kap csúcspotenciált kiváltó impulzusokat az UCS (feltétlen inger) és PSP-t kiváltó ingereket a CS (feltételes inger) felől. Többszöri társítás után a szaggatott vonallal jelölt szinapszis facilitálódik és a CS egyedül is képes lesz akciós potenciál kiváltására. Így módon a CS-től az UCR-ig (feltétlen reflexválasz) terjedő szakaszon új idegpálya kezd működni s új inger — válasz szekvencia jön létre

Az, hogy poliszenzoros, asszociációs areák vannak az agykéregben és ilyen magvak a thalamusban, több, mint 20 éve ismert. Ami fontosabb azonban az, hogy ezek sejtjei, nemcsak több modalitásra érzékenyek, hanem, hogy válaszaik sokkal dinamikusabbak, változékonyabbak, mint a primer szenzoros mezőké. Macskában BENTAL és BIHARI (6) régebben, SZMETANKIN 1973-ban (15), újabban pedig magyar szerző, BANCZEROWSKYNÉ és SZILAKOV (2) mutatta ki, hogy bár a primer szenzoros areákban is vannak bimodális sejtek, számuk lényegesen kisebb. Különböző kondicionálási módszerekkel az asszociatív kéreg neuronjainak modalitás specifikációja sokkal könnyebben módosítható, mint az elsődleges mezők neuronjaié. A BENTAL és BIHARI (6) cikkéből vett post-stimulus hisztogram mutatja (4. ábra), hogy pl. vizuális ingerlésre egyesek excitációval, frekvenciafokozódással, mások gátlással reagálnak. Találtak olyan neuronokat is, melyek egyik modalitásra ingerülettel, a másikra gátlással vagy kétfázisú reakcióval válaszolnak. Végül az ingerek párosításával

extracellulárisan jól regisztrálható változásokat lehetett létrehozni ezen neuronok válaszkészségében, melyeket azután extinció eljárással ki lehetett oltani (SZMETANKIN 1973) (5. ábra). Azok a neuronok, amelyek extracelluláris elvezetésben az egyik modalitásra nem mutatnak csúcspotenciált, lehetnek multimodálisak is, mert a PSP-t e módszerrel nem lehet detektálni.



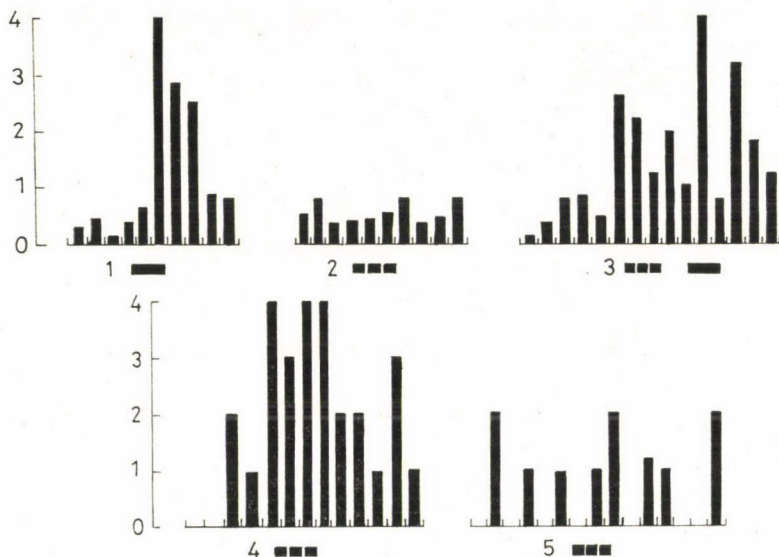
4. ábra. Asszociációs kérgi bimodális sejtek poststimulus hisztogramjai BENTAL és BIHARI [6] cikkéből. Felül: fényingerre frekvenciafokozódással válaszoló sejt, alul: fényingerre kétfázisú reakcióval válaszoló sejt. Abszcissa: idő ms-ben, ordináta: kisülési frekvencia. Pontozott vonal: a kiváltott válaszok átlagos frekvenciája. Szaggatott vonal: a spontán kisülések frekvenciája. Feltűnő a sejt válaszok rendkívüli labilitása

A másik alapvető probléma, mely kísérletes vizsgálatot igényel az, hogy létezik-e az elméletileg megjósolt *heteroszínaptikus facilitáció* az idegrendszerben, s betöltheti-e azt a kulcsszerepet, melyet neki emléknymóképződésben szánunk.

HSF-t idegsejtekben, kondicionálási eljárással először KANDEL és TAUC (12) demonstrált Aplysia idegrendszerében (6. ábra). Egy identifikált idegsejten bizonyos afferens rostok ingerlése révén ingerlő posztzínaptikus potenciált váltottak ki. Ha ezt követően egy másik afferens rostot ingereltek sorozat-ingerekkel, melyek más szinapszisokon keresztül a sejt csúcspotenciáljait vál-

tották ki, akkor az EPSP amplitúdója kb. 7-szeresére nőtt. Ez csak úgy magyarázható, hogy az egyik szinapszis kiadós aktiválása a másik szinapszis hatékonyságának erős fokozódásához vezetett. Ez a HSF, mely egyszersmind reverzibilisnek is bizonyult.

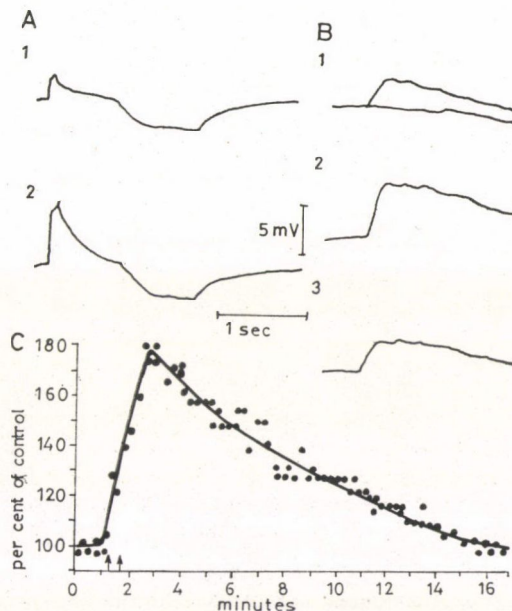
Emlős neokortexben ilyen vizsgálat nem történt, s Baranyi Attila munkatársammal azt a célt tűztük ki, hogy egyrészt megtaláljuk ezt a fontos jelenséget macska mozgatókérgében mely, mint említettem asszociációs területnek



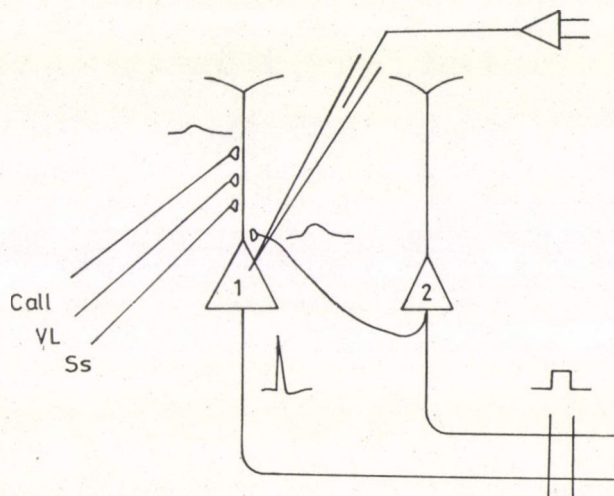
5. ábra. Asszociációs kérgi neuron kondicionálása fény- és hangingerrel SZMETANKIN [15] cikkéből. 1. post-stimulus hisztogram (PSH) fényinger (vízszintes vonal) után. 2. PSH hanginger után (szaggatott vonal). Válasz nincs. 3. Feltételes válasz 8 társítás után. 4. Ugyanaz 25 perc múlva. 5. A válasz eltűnik 30 perc után. Abszcissza: idő, 300 ms-es léptékben, ordináta: kisülési frekvencia

is tekinthető, másrészt, ha ilyen van, megismerjük keletkezésének feltételeit, tulajdonságait s mindezek eredményeként tisztázzuk azt, hogy szolgálhat-e HSF az emléknymoképződés alapjául (3, 4, 5, 9).

Kísérleti paradigmánk a következő volt (7. ábra). Macska mozgatókérgében kerestük fel a pyramis pályához tartozó (PT) és abba nem projiciáló (nem-PT) neuronokat, melyeket antidrom ingerléssel identifikáltunk. Ezután a thalamus VL magja, a szomatoszenzoros pálya és a callosalis összeköttetések ingerlése révén megkerestük a neuron bemeneteit. A VL mag sztereotaxiás ingerlése, az ellenoldali láb bőrének és a homológ kérgi area direkt ingerlése három különböző szinapszist aktivált a neuron membránján, melyek különböző hatásokkal idéztek elő ingerületet. Egyesek közülük csak EPSP-t váltottak ki, mások csúcspotenciált. Negyedik bemenetként az antidrom aktivált szom-



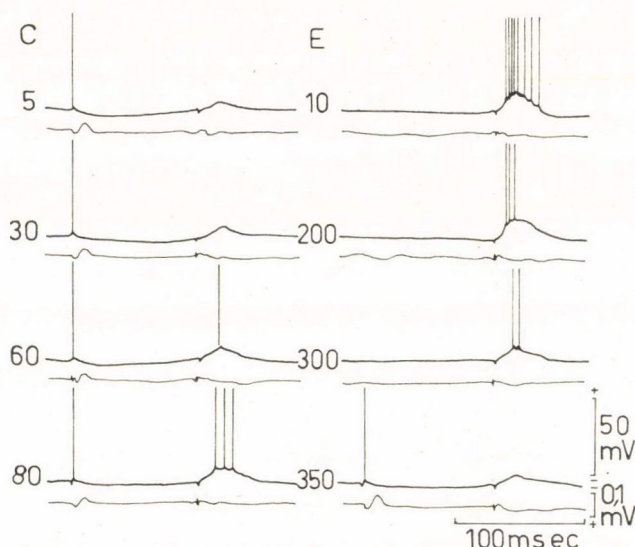
6. ábra. Heteroszínaptikus facilitáció (HSF) *Aplysia* ganglionsejten KANDEL és TAUC [12] közleményéből. A₁: EPSP kondicionálás előtt, A₂: ugyanaz genitális ideg 1 s-os 5/s frekvenciájú ingerlése után. Közben membrán konduktancia mérése is történt. B₁: EPSP másik sejten kondicionálás előtt, B₂: közvetlenül utána, B₃: 14 perccel a kondicionálás után. C: A B. pontban regisztrált EPSP facilitációjának időbeli lefutása. Ordináta: a kontroll érték százalékai, abszcissa: idő percben



7. ábra. Kísérleteinkben alkalmazott paradigma. 1: „gyors” pyramis (PT) sejt, 2: „lassú” PT sejt. Call: kallózási, VL: a thalamus ventrolaterális magja felőli, SS: szomatoszenzoros bemenet. Mindkét PT neuron a PT felől antidrom módon is aktiválható. A 2. neuron monoszínaptikusan ingerli az 1 PT sejtet. Mikroelektrodos elvezetés az 1 sejtől

szédos PT sejtek axon kollaterálisai szerepeltek, melyeket korábban mások is kimutattak. Meg kell jegyeznünk, hogy a VL, a kallozális és a PT bemenet monoszintaptikus volt, míg a szomatoszenzoros EPSP-k oligoszintaptikusnak bizonyultak. Ilymódon kizárható, hogy az egyes ingermodalitások kölcsönhatásai nem a vizsgált neuron membránján, hanem attól távolabb, esetleg alacsonyabb szinten jöhettek létre.

Ha most egy kiválasztott bemenetet ingerelve EPSP-ket váltottunk ki a neuronon s azt egy másik bemenet ingerlésével keltett csúcspotenciállal, meg-

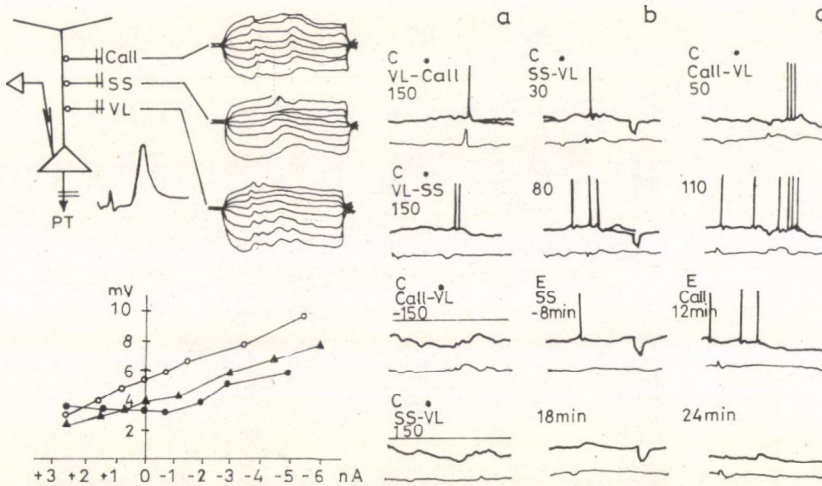


8. ábra. Heteroszintaptikus facilitáció PT neuronon. C: kondicionálási, E: extinkciós széria. A számok a 100 ms időközzel 0,5/sec frekvenciával adott ingerpárok sorszámát jelölik. A csúcs potenciált VL-ingerlés, az EPSP-t szomatoszenzoros ingerlés váltotta ki. Ez utóbbi facilitációja a 30. társítás körül amplitúdó-növekedésben, a 60. ingerpártól spike generálásban nyilvánul meg. Az extinkciós szériában csak SS impulzusokat adtunk. A 350. ingernél a facilitáció teljesen kialszik. Felső sor: intracelluláris, alsó sor: kéregfelszíni elvezetés minden regisztrátumban

határozott (0–100 ms) idő-intervallummal társítottuk, akkor bizonyos számú társítás után az EPSP hatékonysága megnőtt és csúcspotenciál kiváltására vált alkalmassá (8. ábra). Ez a facilitált állapot a korábban gyengébb hatásfokú inger egyedüli alkalmazása során is fennmaradt, majd fokozatosan kioltódott. E kísérletben tehát a HSF-t kétséget kizáróan sikerült létrehozni, mely néhány perctől 30 percig terjedő időtartamra maradt fenn. Az ingerületnek egy új pályája képződött ilymódon szemünk láttára, mely a feltételes reflexek következő tulajdonságait mutatja: 1. ingerek társítására jött létre, 2. extinkció révén megszüntethető, 3. újra kialakítható. További fontos párhuzam, hogy azon szinapszisra nézve specifikus, melynek ingerületét a csúcs-

potenciállal társítottuk (differenciál-kondicionálás) továbbá, hogy az EPSP és csúspotenciál véletlenszerű adásával HSF nem alakul ki (9. ábra).

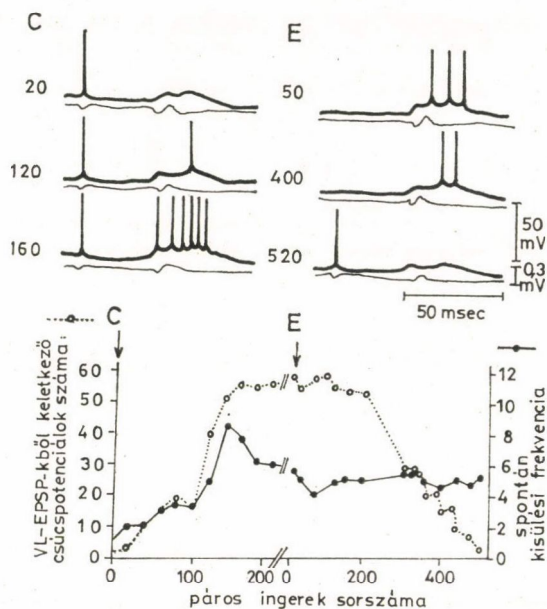
A mi kísérleti eljárásunkkal vizsgált sejteknek kb. negyedrésze tartalmazott kondicionálható szinapszisokat; ebből különösebb következtetéseket nem lehet levonni, mivel nézetünk szerint minden agykérgi sejt rendelkezik a plasztikus változásokra való képességgel és csupán ingerlési technikánk az oka, hogy nem minden neuronban sikerült feltárni ezt a tulajdonságot.



9. ábra. Differenciál kondicionálás egy sejtben, mely Call, SS és VL szinapszisok és antidrom ingerlés révén egyaránt aktiválható volt. B. O.: kísérleti paradigma a bemenetek és az elvezetés helyének feltüntetésével. Az egyes bemenetek mellett az általuk kiváltott EPSP-k változásai vannak ábrázolva különböző mértékű de- és hiperpolarizációk mellett. PT jelölése mellett: antidrom spike regisztrátuma. Alsó diagramm: Call - - - - , VL -▲-▲- és SS -○-○- EPSP-k polarizáció okozta változásainak ábrázolása. J. O.: differenciál kondicionálás bemutatása. *a oszlop* VL-Call 150: VL-EPSP és Call spike 150-szeri társítása után a PSP nem facilitálódik. C-VL-SS 150: ugyanez VL-EPSP és SS spike esetében. C Call-VL 150: hiperpolarizációs völgyben a társítás nem vezet eredményre. C SS-VL 150: ugyanaz SS-EPSP-kkel. *b oszlop* C SS-VL 30 SS-EPSP VL-spike-al 30-szor társítva. Alatta: a 80. társítás után a SS-EPSP már spike-ot vált ki. E SS 8 min és 16 min: az extinkció 8. és 16. percében. *c oszlop* C Call-EPSP VL-spike-al 50-szer társítva. Alatta: a 110. társítás után a PSP facilitálódik. E Call 12 min és 24 min: a facilitáció kialakulásának fázisai a jelzett percekben

Arra nézve, hogy a szinaptikus hatások növekedésének mi az oka, számos elképzelés vethető fel. Lehetséges, hogy a szinaptikus hatások növekedésének az szolgál alapjául, hogy a transzmitter felszabadulás fokozódik. Ha ez így van, akkor HSF-hoz a preszinaptikus rostok között gyakori és intenzív kapcsolatnak kell lennie, pl. axo-axonális szinapszisok formájában. Bár az agykéregben ilyenek előfordulnak, csekély számuk miatt nem jönnek tekintetbe a HSF alapjaként. Egy elvi nehézsége ennek a magyarázatnak az, hogy a neuron integratív tevékenysége eltolódnék a preszinaptikus végződés területére, holott e tevékenység súlypontja szerteágazó egyéb tapasztalatok alap-

ján is, a posztszinaptikus membránban keresendő. Preszinaptikus lokalizáció ellen szól az a tény is, hogy a HSF-hez vezető ingerpáros egyik tagjának csúcspotenciált kell kiváltania a vizsgált neuronon. Az eseményekben szerepet játszó két vagy több preszinaptikus axonban viszont (ahhoz is hogy EPSP-t váltsanak ki) egyaránt csúcspotenciál keletkezik. Ingerületük mértékében tehát különbség nincs: mindkettő „minden vagy semmi” spike, amit fokozni nem lehet, legfeljebb csökkenteni. KANDEL és TAUC a preszinaptikus mecha-

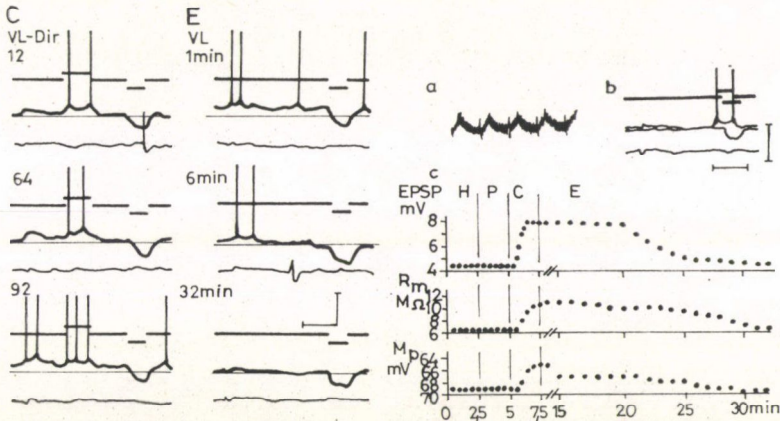


10. ábra. Antidrom úton keltett csúcspotenciálok facilitáló hatása VL—EPSP-kre PT-neuronon. C: kondicionálási széria, melynek 20., 120., és 160. tagját mutatjuk be PT—VL sorrend mellett. Jól látható a VL—EPSP facilitációja, mely az extinkciós szériában (E) fokozatosan visszafejlődik. Alsó diagram: az egész folyamat időgörbéje. ●—●: kondicionálási görbe, ○—○ a sejt spontán aktivitása

nizmus mellett foglalnak állást (13), kísérleteikben viszont a HSF-hoz két EPSP is elegendő, ami macska agykéregben teljesen kizárt.

Mivel a két szinapszis között kapcsolatot teremtő egyetlen anyagi közeg a posztszinaptikus membrán, a HSF lokalizációjának másik lehetősége itt keresendő. Mivel, mint említettem, az EPSP hatékonyságának fokozásához szükséges tényező a hozzá időben kapcsolt csúcspotenciál, a posztszinaptikus hipotézis ellenőrzésére a következő kísérleti paradigma látszott alkalmasnak (10. ábra). Egy PT-neuronon, melyen VL vagy SS eredetű EPSP-k voltak kiválthatók, antidrom úton fix ISI-mal csúcspotenciálokot keltettünk s megvizsgáltuk, hogy e tisztán posztszinaptikus úton keltett spike-ok hozzájárul-

nak-e az EPSP facilitálódásához. Következő képünk azt mutatja, hogy ez lehetséges. VL-(SS)-EPSP-k megfelelő időintervallummal társítva antidrom spike-okkal hatásfokukban lényegesen megerősödnek és csúcspotenciál kiváltására válnak képessé. Más kísérletekben pozitív áram intracelluláris injekciójával váltottunk ki „direkt” spike-okat. Ingerpárokból ezek is a VL-EPSP-k facilitációjához vezettek (11. ábra). Úgy tűnik, ezek alapján, hogy a HSF-hoz azért szükséges csúcspotenciál, mert ez a posztszinaptikus neuron teljesértékű aktivációját jelenti. Ezen aktiváció megtörténte pedig akkor is visszahat a szinapszisa, ha az antidrom vagy direkt ingerlés útján jött létre. Ez kétséget kizáróan a HSF posztszinaptikus lokalizációjára mutat.



11. ábra. Szinaptikus úton keltett EPSP facilitálása direkt, intracelluláris áraminjekcióval. Baloldalt: minden regisztrátum felső sora a mikroelektrodon át a sejtbe küldött áramot jelzi, (pozitivitás felfelé), középső sora az intracelluláris, alsó sora a felszíni regisztrátum. C. kondicionálási széria, VL—DIR 12: VL—EPSP 12. társítása direkt áramimpulzussal, mely önmagában 2 spike-ot vált ki. A 64. társításnál amplitúdó növekedés, a 92. társításnál VL-spike generálás látható. E: extinkciós széria. Ebből az 1., 6. és 32. perc eredményét tüntetjük fel. A kondicionált válasz végül kialszik. Jobboldalt: a) a VL—EPSP monoszinaptikus jellegének bizonyítása: 50/s frekvenciával kiváltható. b) pszeudokondicionálás, véletlenszerűen adott ingerekkel. c) A kondicionálási folyamat teljes lefolyása, melyben az EPSP amplitúdó (felső), a membránellenállás (középső) és a membránpotenciál (alsó diagram) alakulása látható a kísérlet habituációs (H), pszeudokondicionálási (P), kondicionálási (C) és extinkciós (E) fázisában

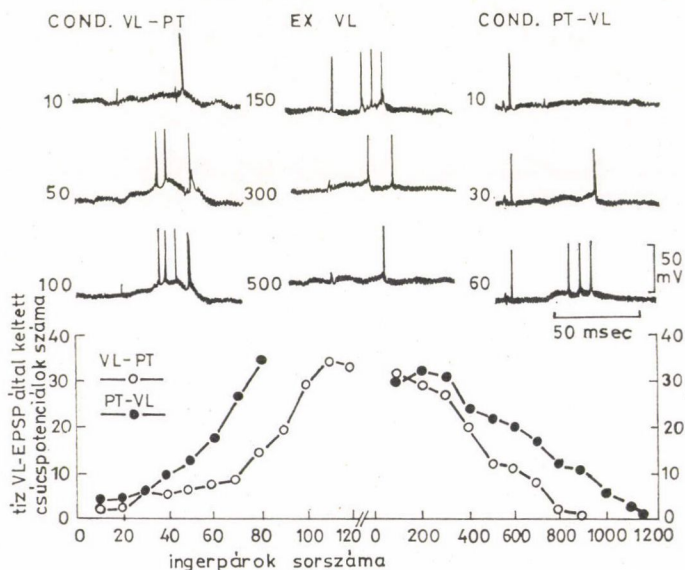
A HSF másik fontosnak látszó tulajdonsága az ingerlés időviszonyaihoz való kötöttsége. Ennek két vonatkozása van. Egyik az, hogy messze nagyobb hatásfokkal akkor volt elérhető, ha az EPSP-t és a spike-ot páros ingerek formájában prezentáltuk. Ekkor 60–90 társítás már eredményre vezetett. Ha a spike-okat 10–20 cps frekvenciájú sorozatinger formájában alkalmaztuk, a létrejött facilitáció kb. 10-szer rövidebb volt és az ingerek ezrei voltak szükségesek annak eléréséhez. Ezt mutatja az 1. táblázat melyet néhány olyan neuron megfigyelése alapján készítettünk, melyeken mindkét ingerlési módra lehetőség volt. A páros ingerek vitathatatlan fölényben vannak, ami valószínű-

1. táblázat

A táblázat a sorozatban és párokban alkalmazott kondicionáló ingerek hatásosságát hasonlítja össze 3 neuron esetében. A számok a sikeres kondicionálások eredményeként elért facilitációk időtartamát mutatják. A páros ingerek lényegesen hatásosabbak

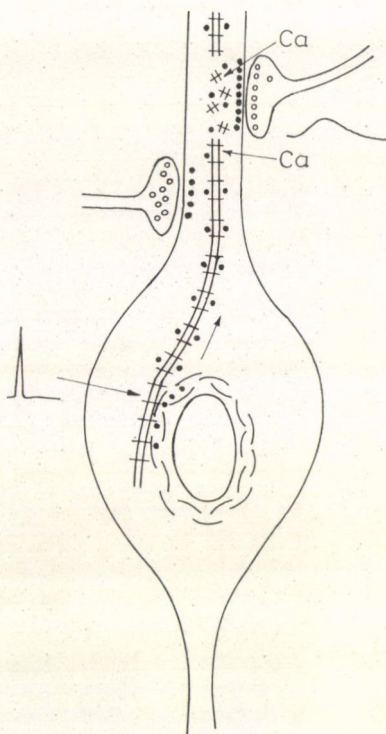
Neuron No	Sorozat mp	Páros mp
3	20	1128
	70	892
	7	359
11	31	789
	48	
	43	
12	7	440
	15	313
	30	148

leg nem irreleváns az egész állaton bevált társítási paradigma mechanizmusát illetően.



12. ábra. EPSP-spike és spike-EPSP sorrendben végzett kondicionálás összehasonlítása Cond VL-PT: VL-EPSP második komponense facilitálódik. A 10., 50. és 100. ingerpár van feltüntetve. Ex, VL: extinkciós sorozat. Cond PT-VL: ugyanaz VL sorrendben, a 10., 30. és 60. ingerpár hatásának bemutatásával. Alul: a két kondicionálási sorozat időbeli lefutásának diagramja. Ordináta: a VL-EPSP-kből keletkező spike-ok száma 10 ingerenként. Abszcissa: az ingerpárok sorszámai

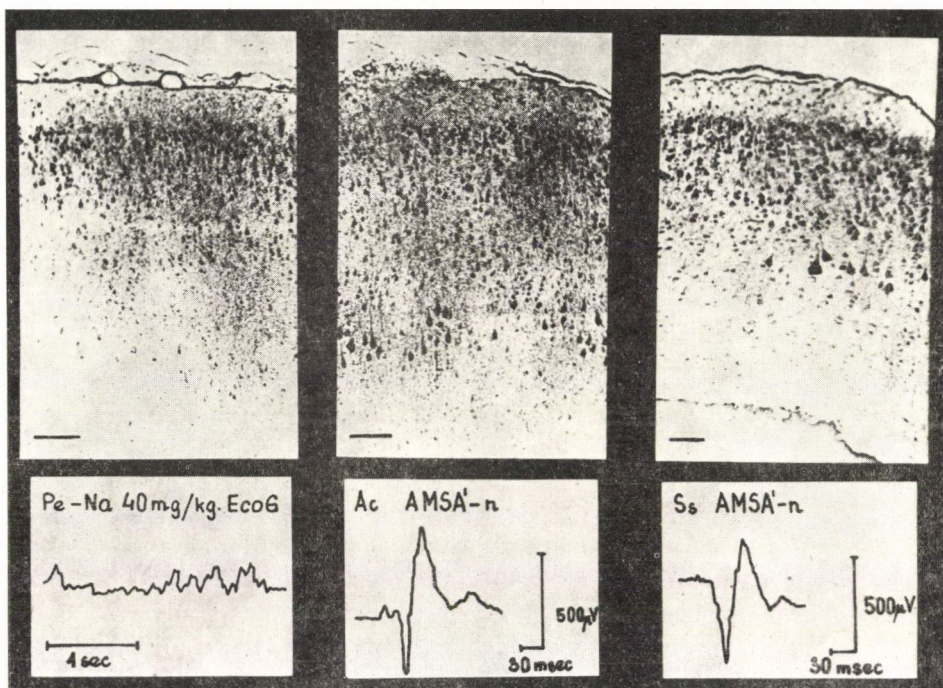
Az időbeli kontiguitás jelentőségét hangsúlyozza másik észleletünk is. Szinaptikus facilitációt, bármely eredetű spike és bármely ingersorrend esetében csak akkor lehetett kiváltani, ha az ISI nem haladta meg a 100 ms-ot. Ez arra mutat, hogy mind az EPSP, mind a spike valamilyen nyomot, utóhatást hagy a membránban vagy a sejt biokémiai mechanizmusában, s a következő inger csak akkor hatásos, ha ezek a nyomok még perzisztálnak. Arra



13. ábra. Hipotézis a csúcspotenciál facilitáló mechanizmusára nézve a vele időben kontiguusan kapcsolt EPSP-re. Magyarázat a szövegben

nézve, hogy mindkettő (EPSP és spike) hagy nyomot az utal, hogy sikeres kondicionálás mind EPSP-spike, mind spike-EPSP sorrendben lehetséges volt (12. ábra). Messze vezetne ha e nyomok természetére vonatkozó hipotéziseinkre kitérnék. E helyen csak a következőket szeretném megjegyezni: a szinaptikus hatásfokot döntő mértékben meghatározó tényezőként a posztszinaptikus receptormező kiterjedtségét, szervezettségét, ionoforokkal való kapcsolatát tekintjük. HSF esetén e receptormező új receptorokkal egészül ki, extinkció alatt e folyamat regredial. Új receptorok a perikaryon Golgi apparátusában szintetizálódnak, a tubuláris szállító szalagon a dendritekbe, a receptorok közelébe szállítódnak (FAMBROUGH és DeVREOTES 1978). (13. ábra). Aktív

szinapszisok tájékán a belépő Ca a tubuláris apparátust dezorganizálja (WEISENBERG 1972) s a rá kötött receptor molekulák a posztszinaptikus receptor mezőhöz csatlakoznak. Ilymódon az EPSP-t kiváltó idegimpulzus hatásfoka nő s csúcspotenciál kiváltására válhat képessé. Ahhoz, hogy a receptormező kiegészítése végbemenjen, a szinaptikus ingerületnek valamilyen szinkronba kell kerülnie a fehérje szintézist vagy a receptorok és ionoforok tubuláris szállító szalagra történő felrakódását szabályozó csúcspotenciálokkal. Az idő-

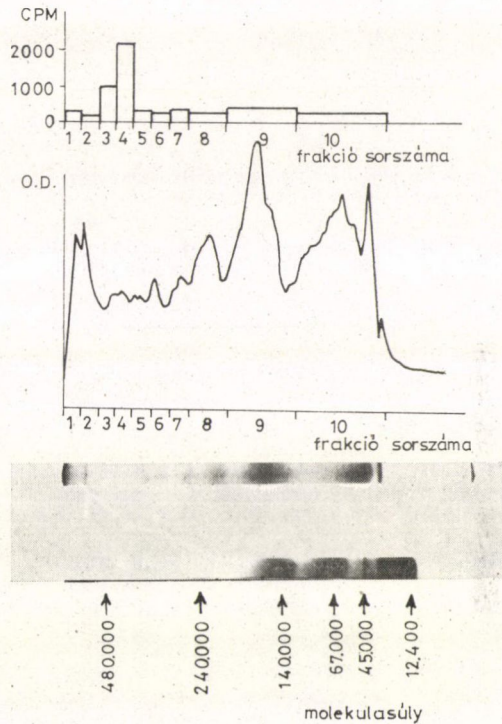


14. ábra. [^3H]-glicin beépülése altatott macska asszociációs kérgébe (AMSA) spontán aktivitás alatt (baloldalt), akusztikus ingerlésre (középen) és SS-ingerlésre (jobbaldalt). Alul elektrokortikogramok

beli kontiguitás kiemelkedő szerepét egy ilyen intracelluláris mechanizmus magyarázhatná.

Mint látja a tisztelt hallgatóság, ezzel megközelítettük a fiziológiai módszerek teljesítőképességének határait s olyan sejten belüli, finomabb folyamatokba ütköztünk melyek már csak a biokémiai és ultrastrukturális módszerek együttes alkalmazásával ismerhetők meg. E felismerés alapján kezdtünk kollaborációt az SZBK Neurobiológiai csoportjával, élén Joó Ferencel, s arra teszünk kísérletet, hogy kondicionálás eredményeként plasztikus változásokat mutató szinapszisokat identifikáljuk. Ha ez megtörtént, mód nyílhat azon finomabb módosulások felkeresésére, melyek a szinaptikus hatásfok emelkedését

tükrözik. Párhuzamosan, szükségesnek látszik az idegszövetből azon fehérjék izolálása, melyek szintézisére, foszforilálódására és/vagy tubuláris transzportjára az ingerület serkentően hat. Ilyen fehérjét már találtunk s Rojik Imrével (14) autoradiográfiásan (14. ábra), Novák Róberttel pedig elektroforetikus úton (15. ábra) részlegesen sikerült izolálni (16. ábra). Természetesen nem ab ovo következik, hogy ez a nagy glicintartalmú fehérje éppen az, amely a



15. ábra. Ingerelt hallókéregbe beépült ^{14}C -glicint tartalmazó fehérjék analízise PAG-elektroforézissel. Felül: az egyes frakciók radioaktivitása CPM-ben; középen: a PAG denzitogramja. Alul: a vizsgált gél és a mólsúly standard gél fényképe. A 3. és 4. frakció kiemelkedően nagy specifikus aktivitást jelez

szinaptikus hatásfok növekedésében szerepet játszik, de példáját nyújtja annak hogy az ingerület és fehérjeszintézis között ilyen kapcsolat létezik.

Az elmondottakat egy kissé távolinak tűnő analógiával szeretném alátámasztani és szemléltetni: sok millió kilométeres átmérőjű csillagok, sőt galaxisok keletkezését, sorsát az asztronómia akkor tudta csak magyarázni, mikor az atommagban végbemenő folyamatokra fény derült. Hatalmas égi objektumok sorsa az elemi részecskék kölcsönhatásain, társulásán és szétválásán múlik, s reális szintézist csak e legmélyebb összefüggések birtokában

lehet felépíteni. Meggyőződésem, hogy így van ez az idegrendszer esetében is, s ma már világos, hogy sejtszinten, sőt szubcelluláris szinten várható újabb felismerések azok, melyek az idegrendszer egészének megértéséhez közelebb visznek.

IRODALOM

1. ÁDÁM GYÖRGY: Elemi agyi információátviteli mechanizmusok. MTA Biol. Oszt. Közl. **14**, 275—300 (1971).
2. BANCZEROWSKINÉ PELYHE ILONA, SZILAKOV, V. L.: Plasztikus neuronaktivitás-változások izolált emlős agykéregben. MTA Biol. Oszt. Közl. **22**, 193—215 (1979).
3. BARANYI, A., FEHÉR, O.: Conditioned changes of synaptic transmission in the motor cortex of the cat. Exp. Brain Res. **33**, 283—298 (1978).
4. BARANYI, A., FEHÉR, O.: Intracellular studies on cortical synaptic plasticity: conditioning effects of antidromic activation on test EPSPs. Exp. Brain Res. **41**, 124—134 (1981).
5. BARANYI, A., FEHÉR, O.: Heterosynaptic facilitation in the motor cortex of the cat. Neuron Concept Today (eds. J. Szentágothai, J. Hámos, E. S. Vizi) pp. 255—256. Budapest, Akadémiai Kiadó, (1977).
6. BENTAL, E., BIHARI, B.: Evoked activity of single neurons in sensory association cortex of the cat. J. Neurophysiol. **26**, 207—214 (1963).
7. BRINDLEY, G. S.: The classification of modifiable synapses and their use in models of conditioning. Proc. Roy. Soc. B. **168**, 361—376 (1967).
8. FAMBROUGH, D. M., DEVREOTES, P. N.: Newly synthesised acetylcholine receptors are located in the Golgi apparatus. J. Cell. Biol. **76**, 237—244 (1978).
9. FEHÉR, O., BARANYI, A.: On the elementary mechanisms of the memory trace formation. Acta Physiol. Hung. (közlésre elfogadva).
10. GARDNER-MEDWIN, A. R.: Modifiable synapses for learning. Nature **223**, 916—919 (1969).
11. GRIFFITH, J. S.: A theory of the nature of memory. Nature **211**, 1160—1163 (1966).
12. KANDEL, E. R., TAUC, L.: Heterosynaptic facilitation in neurones of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. J. Physiol. (London) **181**, 1—27 (1965).
13. KANDEL, E. R., TAUC, L.: Mechanism of heterosynaptic facilitation in the giant cell of the abdominal ganglion of *Aplysia depilans*. J. Physiol. (London) **181**, 28—47 (1965).
14. ROJIK, I., FEHÉR, O.: Correlations between glycine incorporation and cerebral cortical activity. Exp. Brain Res. **39**, 321—326 (1980).
15. SZMETANKIN, G. N.: Involvement in the temporary connection of units of the visual and associative cortical areas of the cat. Zsurnál Vűszs. Nerv. Dejat. **20**, 563—569 (1970).
16. WEISENBERG, R. C.: Microtubule formation in vitro in solution containing low calcium concentrations. Science **177**, 1104—1105 (1972).