

PLASZTIKUS VÁLASZOK NEURONHÁLÓZATOKBAN

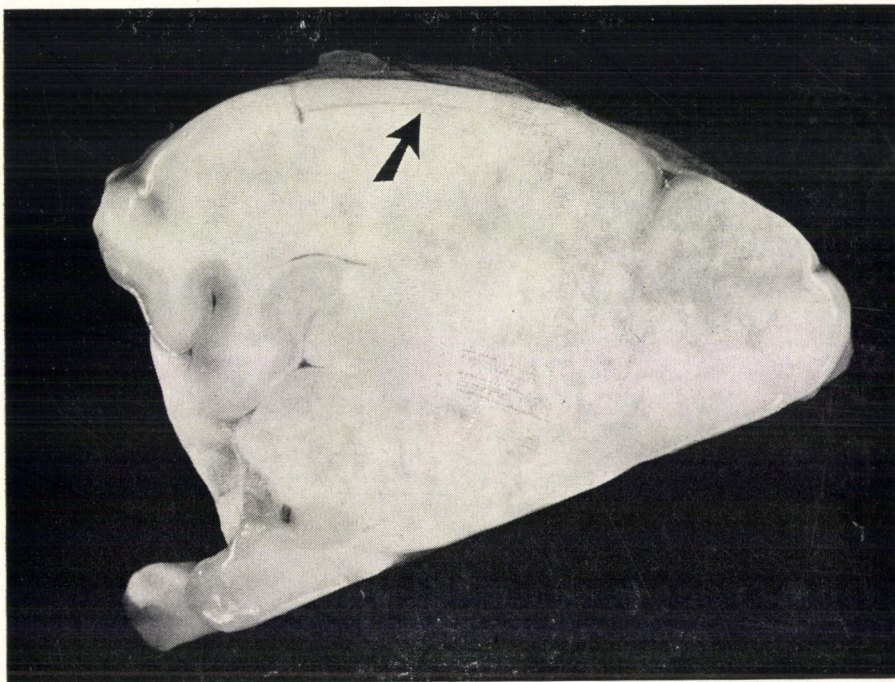
BANCZEROWSKINÉ PELYHE ILONA,
PUSZTAI JÁNOS és ÁDÁM GYÖRGY

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Összehasonlító Élettani Tanszék, Budapest

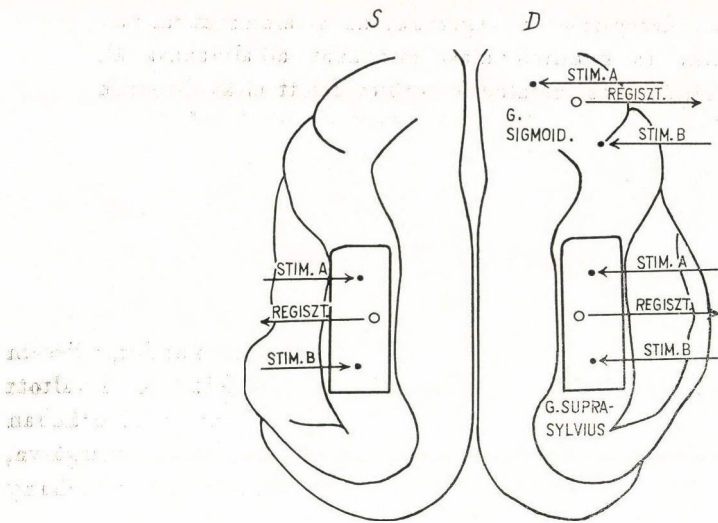
Korábbi vizsgálatainkban, amelyekről a MÉT utóbbi Vándorgyűlésein [2, 3, 12] számoltunk be, az elemi időtanulási modell, a feltételes kiváltott potenciál kiépülésének lehetőségét, a szubkortextól izolált kérgi struktúrákban kialakítható intrakortikális kapcsolatok létrejöttének feltételeit vizsgálva, tisztáztuk a FKP-kiépülés *dinamikájának, térbeli és időbeli lezajlásának* néhány sajátosságát.

Emlékeztetőül felidézzük ezen vizsgálatok néhány momentumát.

Kloralózzal narkotizált macskaagyon, a g. suprasylvius területén U alakban hajlított acélhúr segítségével 1,5 cm hosszú, 0,5 cm széles és a kéregvastagságnak megfelelő mélységű kéregcsíkot metszettünk (1. ábra), oly mó-

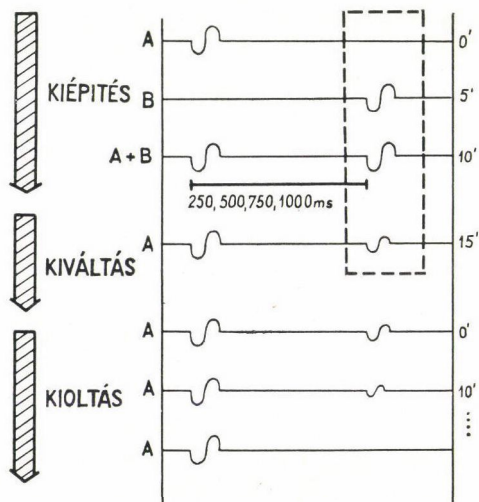


1. ábra. Macskaagy baloldali félteke szagittális metszete a g. suprasylvius középvonalának síkjában. A nyíl a kéregcsíkot és az izolálás metszévonalát mutatja



2. ábra. A macskaagyféltekék felülnézeti sematikus rajza a kéregszelvények, valamint az ingerlő és elvezető elektródok elrendezését ábrázolja

A FKP KIÉPÍTÉSÉNEK MENETE



3. ábra. A vázlat a kondicionálás egyes szakaszaiban regisztrált válaszok sorrendjét és időbeli viszonyait ábrázolja. Részletesebben lásd a szövegben

don, hogy a szelet vérellátását biztosító piális keringés ne sérüljön. A kapott, izolált neurontömegben egymástól 8 mm távolságra két bipoláris, intrakortikális (A és B) ingerlőelektrodot helyeztünk el (2. ábra), az ezüst gömbelektrod az ezek közötti területről vezette el az aktivitást. A vizsgálatok során mindkét agyféltekén nyomon követtük a feltételes válasz alakulását, a jobb oldalon a g. sigmoideus területén, ép kéregrészen kontroll kísérletet végeztünk. A bal oldali agyféltekén ép kéregrészen feltételes kiváltott potenciált építettünk ki, majd ezután a területet neuronálisan izoláltuk.

A feltételes kiváltott potenciál kiépítése az ÁDÁM és munkatársai [1] által korábban leírt módon történt, sémáját a 3. ábra szemlélteti.

NTA 512 B típusú analizátor segítségével az A, valamint a B inger által kiváltott direkt kérgi válaszok 40—40 átlagát kontrollgörbéként regisztráltuk. Az A + B ingereknek 250—500—750—1000 ms késleltetéssel történő társítása után kiváltást végeztünk a B inger elhagyásával, regisztráltuk a B inger helyén megjelenő feltételes választ, melyet azután kioltottunk.

Megállapítottuk, hogy a FKP az általunk alkalmazott négyféle késleltetési idő esetén kiépíthető, de a feltételes kiváltott potenciál megjelenési gyakoriságát tekintve az 500 ms látszik optimálisnak: az esetek 96%-ában kiépült a feltételes válasz, míg a többi időintervallum esetén a százalékos megjelenési valószínűség jóval ezen érték alatt marad (1. táblázat).

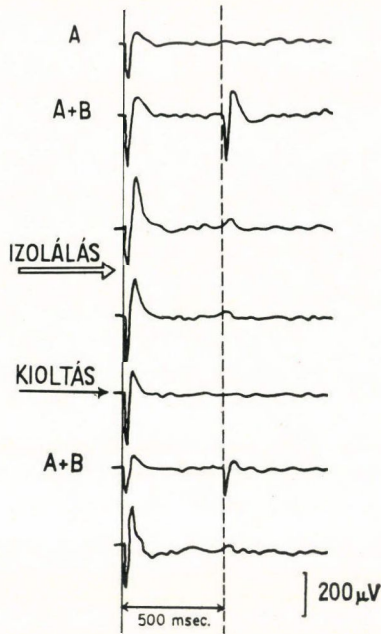
I. táblázat

A feltételes kiváltott potenciál kiépülésének lehetősége az A és B inger közti különböző késleltetési idők esetén

Késés ms	Kondic. kísérletszám	FKP kiépült	%	Megj.
1000	18	8	44	optimum
750	18	9	50	
500	18	17	94	
250	18	7	39	

Az azonos kísérleti feltételek mellett ép kéregben kiépített FKP a terület izolálása után fennmarad, de amplitúdója kisebb (4. ábra). E jelenség arra utalhat, hogy ép kéreg esetén a kiépítés során több olyan pálya került ingerületbe, mely a szubkortexen áthaladt. Ezek ingerületének hatása az átmetzés után megszűnik.

A kísérletek későbbi szakaszában a kondicionáló ingerpárokat egyetlen elektródon át alkalmazva megállapítottuk, hogy ez esetben a FKP kiépítésének feltételei kedvezőtlenebbek az előzőeknél, jobbára egyáltalán nem kapunk feltételes választ. Ezen adatunk azt látszik megerősíteni, hogy az időleges kapcsolat két neuronpopuláció között könnyebben kialakul, mint amikor



4. ábra. A feltételes kiváltott potenciál kiépíthetősége és fennmaradása a g. suprasylvius területén az izolálás előtt és után. Jól látható, hogy az izolálás utáni kiváltásban a feltételes kiváltott potenciál fennmarad, bár amplitúdója kisebb

azonos neuroncsoportot egymásután következő páros impulzusokkal ingerlünk.

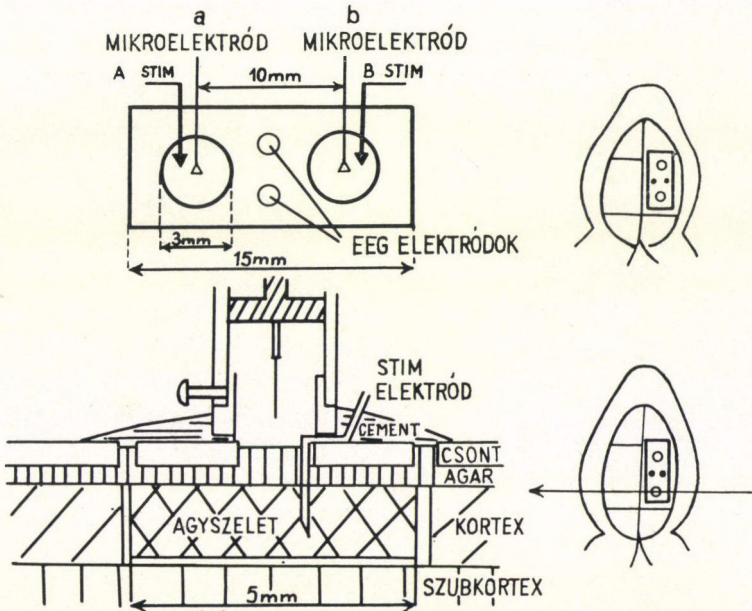
E korábbi kísérleteinket párosan alkalmazott ingerlő elektródok és centrálisan elhelyezett egyetlen regisztráló makroelektród segítségével végeztük. Jelen munka a közelmúltban extracelluláris páros mikroelektródokkal végzett további vizsgálataink kezdeti eredményeit ismerteti.

Irodalmi adatok [5, 9] nyomán célszerűnek láttuk a plasztikus jelenségeknek két független extracelluláris mikroelektróddal regisztrált neuronon történő nyomon követését, mivel a neuronok aktivitás-változása gyakran nem az egyes neuronoknak a spontán háttéraktivitáshoz viszonyított módosulásában rejlik, hanem a két regisztrált neuron aktivitása közti korreláció növekedésében vagy csökkenésében manifesztálódik. Mivel a központi idegrendszeri neuronok működését nagyszámú hálózati kapcsolatuk determinálja, az egyetlen neuronról elvezetett aktivitás lényegesen kevesebb információt tartalmaz. Több neuron egyidejű aktivitásának és aktivitásváltozásának nyomon követése alapján az elemi agyi neuronális folyamatok idő- és térbeli törvényszerűségeire egyaránt jobban következtethetünk.

A kérgi neuronoknak plasztikus folyamatok következtében létrejövő kölcsönhatásváltozását a narkózis befolyásának kiküszöbölésével 16 éber,

nem immobilizált nyúlón, akut kísérletben, ugyancsak egyszerűsített preparátumon, neuronálisan izolált kéregszeleten végeztük, az általunk korábban alkalmazott izolálási technika és kondicionálási mintázat alkalmazásával. Az izolálás megkönnyítése céljából az izolálandó terület felett eltávolítottuk a koponyacsontot, az ingerlő és elvezető elektródok számára lyukakat fúrtunk, majd a koponyacsontot eredeti helyére visszahelyeztük, rögzítettük. A neuronaktivitást 1–5 μ átmérőjű Wolfram mikroelektródokkal, a koponyacsonton rögzített, két független hidraulikus mikromanipulátor segítségével vezettük el (5. ábra).

A neuronaktivitást UBP-1-02 erősítő segítségével M-168 típusú ötcsatornás magnetofonon 15 percig regisztráltuk. Mindkét neuron spontán aktivitását 2 percig kontrollként magnóra rögzítettük. Ezután kezdtük a kondicionálást: 40 társítás után (A + B inger együtt) 10 kiváltást (A inger egyedül) végeztünk, ezt négyszer ismételve összesen 160 társítást és 40 kiváltást alatti páros neuronaktivitást értékeltünk. A kiépítés befejeztével 2 percig ismét a neuronok háttéraktivitását rögzítettük, majd az A inger 2×40 -szer történő egyedüli alkalmazásával kioltást végeztünk, majd ismét az a és b



5. ábra. Az elektródok és a mikromanipulátor elhelyezése a kísérleti állat fején. Az ábrán felül a kéregszelet feletti koponyacsont vázlatos rajza látható. A mikroelektródok és az intrakortikális ingerlőelektródok bevezetésére szolgáló, egyenként 3 mm átmérőjű, csontba fúrt nyílás középpontjának távolsága 10 mm. A két, a és b elvezető mikroelektród a két ingerlőelektród közelében helyezkedik el. A csonton bipoláris EEG elektródok számára még két nyílást fúrtunk. A képen alul a mikromanipulátor rögzítését ábrázoltuk. (A kísérleti állat fejének — a kép jobb oldalán látható — sematikus rajzán nyíllal jelöltük a metszés síkját.)

neuron spontán aktivitását regisztráltuk, hogy a kondicionálás, valamint a kioltás után a spontán aktivitásban megmutatkozó változásokat a kontroll háttéraktivitással összevethessük (6. ábra). Az adatfeldolgozást a regisztrálás befejezése után végeztük el. A társítás, a kiváltás és a kioltás során az a és b neuronok aktivitásáról, poszt-stimulus-hisztogramot (PST) készítettünk. A regisztrálás valamennyi fázisában auto- és keresztkorrelációs analízist végzünk.

A NEURONPÁROK AKTIVITÁSÁNAK REGISZTRÁLÁSA ÉS KIÉRTÉKELÉSI MÓDJA

2 PERC	6 PERC 40sec		2 PERC	2 PERC 40sec	2 PERC
SPONTÁN HÁTTÉR AKTIVITÁS $a + b$	KIÉPÍTÉS		HÁTTÉR AKTIVITÁS $a + b$	KIOLTÁS (A) 2×40 $a + b$	HÁTTÉR - AKTIVITÁS $a + b$
	TÁRSÍTÁS (A+B) 160 $a + b$	KIVÁLTÁS (A) 40 $a + b$			
∅	PST HISZTOGRAMM	PST HISZTOGRAMM	∅	PST HISZTOGRAMM	∅
a, b AUTOKORRELÁCIÓS ANALÍZIS $a - b$ } KERESZTKORRELÁCIÓS ANALÍZIS $b - a$ }					

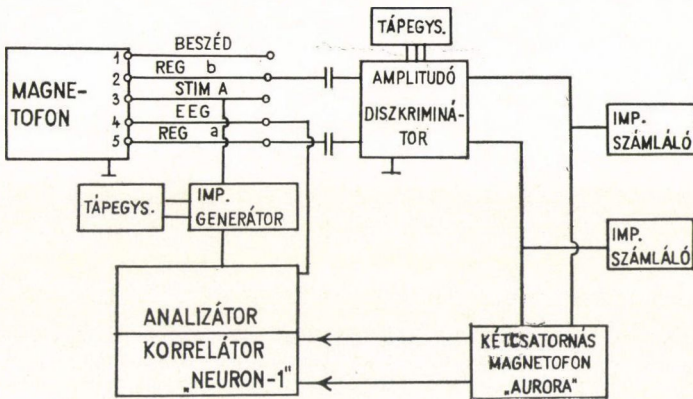
6. ábra. Az egysejtaktivitás regisztrálásának folyamatábrája. Részletesen lásd a szövegben

A magnetofonszalagon rögzített sejtaktivitást (egy mikroelektróddal gyakran 2 neuron aktivitását regisztráltuk) alsó és felső küszöbvel rendelkező amplitúdó-diszkriminátoron szétválasztottuk, amennyiben a két neuron aktivitása, valamint a jel/zaj viszony nagyobb volt, mint 2 : 1. (Csak ilyen regisztrátumokat értékeltünk. Az impulzussorozatokból a nagyfrekvenciájú, izomkontrakcióval kapcsolatos mozgási artefaktumokat kiszűrtük.) A szétválasztott neuronaktivitást neuronpáronként kétsatornás magnetofonra rögzítettük a további értékelés (PST hisztogram, korrelációs analízis) egyszerűsítése végett. A PST hisztogram felvételekor az analizátort az A ingerrel szinkron standard impulzus indította (7. ábra).

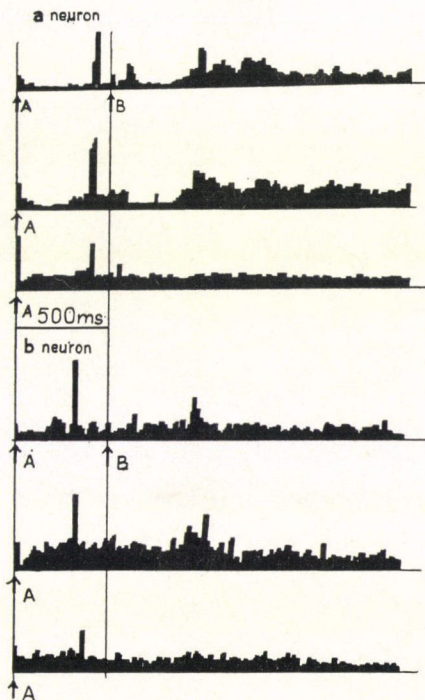
Összesen 62 neuron (31 pár) aktivitását regisztráltuk. Az adatok számítógépes kiértékelése még folyamatban van.

34 neuron PST hisztogramját vizsgáltuk. Az előkísérletekben olyan ingerintenzitásokat alkalmaztunk, amelyekre az EEG-ben kifejezett DCR jelent meg. E feltétel mellett mindkét (A + B) ingerre válaszol 22 neuron (65%), csak egyik ingerre válaszol 7 neuron (21%), egyikre sem válaszol 5 neuron (14%). A második inger elhagyására „tanult” neuronválaszt mutat a PST hisztogram alapján 19 neuron, azaz az értékelt neuronok 56%-a, és a mindkét ingerre válaszoló neuronok (22) 86%-a.

ADATFELDOLGOZÁS MÓDJA



7. ábra. Az adatfeldolgozás bloksémája



8. ábra. Egy egyidejűleg regisztrált neuronpár (a és b) PST-hisztogramjai a társítás (A + B, első sor), kiváltás (A, második sor) és kioltás során (A, harmadik sor). A kiváltásnak megfelelő PST hisztogramokban látható, hogy a B inger által kiváltott neuronválasz a társítás eredményeként a B inger elhagyása után is fennmarad, a kioltás után pedig nem regisztrálható

Egy egyidejűleg regisztrált neuronpár PST hisztogramjait mutatja a 8. ábra.

A tanult választ mind az *a*, mind pedig a *b* neuron regisztrátumán megfigyelhettük.

A PST hisztogram előnye kétségtől, hogy háttérzaj esetén is kimutatja a reakciót, az inger és a válasz viszonyát, a latenciaidőt és a refrakter periódust.

Ha a görbén több maximum található, feltehető, hogy a neuron aktivítása periodicitást mutat (talán reverberál?), de a PST hisztogram ennek kimutatására nem elegendő, a kép ugyanis akkor is azonos, ha a neuron az egyik ingerre egyféle, a másikra egy — a másik maximumnak megfelelő — másik latenciaidővel válaszol. A periodikus aktivitást, amely a neuronon záruló visszacsatolásra, vagy más rendszeres, periodikus behatásra enged következtetni, az autokorrelogram segítségével mutathatjuk ki. Az auto- és a neuronpárok aktivitása közti összefüggést kimutató krosszkorrelációs analízis folyamatban van.

GRIFFITH, HORN, LIVANOV, KOGAN, HOLMES, ZSADIN [7, 8, 9, 10, 13, 14] és más szerzők munkája alapján igazolást nyert, hogy a kérgi neuronok vagy szinergista, vagy reciprok összefüggésben működnek. Az egyes neuronok működése közötti kapcsolatot vizuálisan alig lehet megfigyelni, a krosszkorrelációs analízis kimutatta, hogy a korrelációs koefficiens értéke viszonylag kicsi.

A kérgi neuronok oszlopstruktúrájának funkcionális igazolására irányuló kísérlet sorozatai során KOGAN [9] megállapította, hogy békán az egymástól 100—200 μ távolságra levő spontán aktív neuronok szinfazisan működnek. Több száz mikron távolságban reciprok összefüggés figyelhető meg.

Nyúl agykérgén végzett megfigyeléseik alapján MELEHOVA, ZSADIN [11] megállapították, hogy a szenzomotoros és látókérgi neuronok működése kölcsönhatásban van, bár a távolság köztük az 1 cm-t meghaladja.

A gátlási folyamatok szerepére utal BLISS, BURNS és UTLEY [4] azon megfigyelése, mely szerint 7—10 perces kondicionáló ingerlés hatására a vizsgált neuronok válaszában latenciaideje megnő, vezetőképessége csökken, viszont új neuronpályák kapcsolódnak be. Ez a megfigyelés YOUNG [15] azon feltételezését igazolja, mely szerint a tanulással kapcsolatos ismételt ingerlés hatására valószínűbb, hogy progresszíve megnő a vezető pályák száma, mint az, hogy az egyes szinapszisok vezetőképessége fokozódik. A posztetanikus potenciáció időtartama túl rövid ahhoz, hogy elsőrendű szerepet játsszon, másrészt a heteroszínaptikus hatások feltehetően igen lényeges tényezői a hálózat aktivitásának.

CSIZSENKOVA [6] nyúlón, ép agykérgen és izolált kéregszeleten az ingerpárok közti 1200 ms késleltetéssel épített ki feltételes választ, megállapította, hogy a neuron a késői válaszkomponenseket rögzíti. Ép kérgen a neuronok 30%-a, izolált kéregben 26%-a, mutatott a PST hisztogram alapján választ.

Kísérleteink az irodalmi adatokat alátámasztják és továbbfejlesztik. Egymástól 10 mm távolságra levő ingerlőelektródok esetében 500 ms késleltetéssel történő ingertársításra az összneuronok 56%-ánál, a PST hisztogram alapján mindkét ingerre válaszoló neuronok 86%-ánál sikerült percekig fennmaradó feltételes választ kiépitni. Az egy mikroelektróddal elvezetett, tehát egymáshoz közel álló neuronok azonos jellegű választ mutattak. A „tanuló neuronok”-nak az irodalmi adatokkal szemben nagyobb százalékos aránya esetleg összefügghet azzal, hogy más szerzők — tőlünk eltérően — hosszabb késleltetési időt alkalmaztak, amelyek korábbi adataink szerint a feltételes válasz szempontjából kevésbé optimálisak, mint az általunk alkalmazott 500 msec-os késleltetés.

A kísérleteket a SzUTA Biofizikai Intézetének Memória részlegében, M. N. Livanov akadémikus laboratóriumában végeztük.

IRODALOM

1. ÁDÁM G., KUKORELLI T.: Conditioned evoked potential a model experiment of learning. *Acta Physiol. Acad. Sci. hung.* **26**, 47—51 (1965).
2. ÁDÁM GY., B. PELYHE I., PUSZTAI J.: Feltételes kiváltott potenciál neuronálisan izolált agykéregszelvényben. MÉT XXXVIII. Vándorgyűlése, Budapest (1972).
3. ÁDÁM GY., B. PELYHE I., PUSZTAI J.: Az izolált agykéregszelvény tanult kiváltott potenciálja: feltételes kapcsolat-modell vagy ritmuskövetési jelenség. MÉT XXXIX. Vándorgyűlése, Pécs (1973).
4. BLISS T. V. P., BURNS B. DELISLE, UTTLEY A. M.: Factors affecting the conductivity of pathways in the cerebral cortex. *J. Physiol.* **195**, 339—367 (1968).
5. BURNS, B. DELISLE: *The Uncertain Nervous System*, Edward Arnold (Publishers) Ltd. London (1968).
6. CSIZSENKOVA R. A. (ЧИЖЕНКОВА Р. А.): Исследование условного рефлекса в модельной ситуации на нейронах сенсомоторной коры. В сб.: Клеточные механизмы памяти. Пушино, стр. 79—88 (1973).
7. GRIFFITH J. S., HORN G.: Functional coupling between cells in the visual cortex of the unrestrained cat. *Nature* **199**, 4896, 876—895 (1963).
8. HOLMES, O., HOUCHE JANE: Units in the cerebral cortex of the anaesthetized rat and the correlation between their discharges. *J. Physiol.* **187**, 651—671 (1966).
9. KOGAN, A. B. (КОГАН А. Б.): Об организации нервных клеток в нейронные ансамбли. В сб. Современные проблемы нейрокибернетики. Изд. «Наука», Ленинград стр. 4—20 (1972).
10. LIVANOV, M. N. (ЛИВАНОВ М. Н.): Пространственная организация процессов головного мозга. Изд. «Наука», Москва (1972).
11. MELENOVA, A. M., ZSADIN, M. N., PODOLSKIJ I. JA. (МЕЛЕХОВА А. М., ЖАДИН М. Н., ПОДОЛЬСКИЙ И. Я.): О взаимосвязи в работе нейронов коры головного мозга кролика при следовом условном рефлексе. В сб.: Проблемы пространственной синхронизации биопотенциалов головного мозга. Пушино на Оке, стр. 104—109 (1973).
12. PELYHE I., PUSZTAI J., ÁDÁM GY.: A késleltetési idő szerepe a neuronálisan izolált agykéregszelvény feltételes kiváltott potenciáljának létrejöttében. MÉT XXXIX. Vándorgyűlése, Pécs (1973).
13. ZSADIN, M. N., RUDNYEV JU. L., KARNUP, Sz. V.: (ЖАДИН, М. Н., РУДНЕВ. Ю. Л., КАРНУП С. В.): Корреляционный анализ фоновой импульсной активности нейронов коры головного мозга. В сб.: Проблемы пространственной синхронизации биопотенциалов головного мозга. Пушино, стр. 100—103 (1973).
14. ZSADIN, M. N., RUDNYEV, JU. L., KARNUP, Sz. V. (ЖАДИН М. Н., РУДНЕВ Ю. Л., КАРНУП С. В.): Межнейрональные взаимодействия в коре бодрствующего кролика. В сб.: Физиологические механизмы памяти. Пушино стр. 60—67 (1973).
15. YOUNG, J. Z.: *The Memory System of the Brain*. Oxford, University Press (1967).