

Streszczenie

Korowa sieć neuronalna składa się z pobudzających komórek glutaminianergicznych i hamujących interneuronów GABAergicznych. Komórki GABAergiczne regulują przepływ informacji w lokalnych sieciach neuronalnych, wpływając na pobudliwość komórek glutaminianergicznych, odpowiadając za filtrowanie sygnału na wejściu i kontrolę informacji na wyjściu. Pod względem ekspresji znaczników molekularnych neurony GABAergiczne tworzą trzy klasy komórek: interneurony somatostatynowe (Int-SOM), parwalbuminowe (Int-PV) i ekspresyjone jonotropowy receptor serotoninowy 5HT_{3a}. Ostatnia klasa dzieli się na interneurony zawierające wazoaktywny polipeptyd jelitowy (Int-VIP) i komórki nie zawierające tego białka.

Wiele badań wskazuje na szeroką rolę różnych klas interneuronów GABAergicznych w procesach związanych z uczeniem, formowaniem pamięci oraz jej kodowaniem i ekspresją. Jednak mniej uwagi poświęca się zmianom plastycznym wywołanym uczeniem się w obrębie różnych klas interneuronów. Zamieszczone w niniejszej pracy badania miały za zadanie ujawnić czy prosta forma uczenia u myszy prowadzi do plastycznych zmian aktywności elektrofizjologicznej trzech typów komórek GABAergicznych w IV warstwie pierwszorzędowej kory somatosensorycznej (baryłkowej): Int-SOM, Int-PV i Int-VIP.

W tym celu jedną grupę zwierząt poddano procedurze warunkowania składającej się z jednoczesnego podawania bodźca warunkowanego, stymulacji dotykowej rzędu wibrys i bezwarunkowego, szoku elektrycznego w ogon. Druga grupa myszy przeszła procedurę pseudowarunkowania, w której bodziec elektryczny nie był skojarzony w czasie ze stymulacją wibrys, lecz dostarczany losowo. Ostatnia grupa, zwierząt naiwnych, nie została poddana żadnej formie manipulacji. Jeden dzień po ostatniej sesji procedur, wykonywano rejestracje elektrofizjologiczne z pojedynczych neuronów (ang. *whole-cell patch-clamp*) w skrawkach mózgowych w IV warstwie reprezentacji czuciowych (baryłkach) odpowiadających stymulowanym rzędom wibrys.

Doświadczenia wykazały zwiększenie pobudliwości własnej (wewnętrznej) Int-SOM u zwierząt warunkowanych w porównaniu z pseudowarunkowanymi i naiwnymi. Pobudliwość Int-PV była zmniejszona u myszy pseudowarunkowanych w porównaniu z pozostałymi grupami myszy. Natomiast pobudliwość Int-VIP, które charakteryzowały się akomodacją wyładowań, zmniejszyła się u myszy pseudowarunkowanych w porównaniu do myszy warunkowanych, ale nie naiwnych. Analizy kształtu potencjałów czynnościowych głównie wykazały, że zwiększenie pobudliwości interneuronów wiąże się ze skróceniem czasu trwania

poszczególnych potencjałów czynnościowych (zmniejszeniem szerokości połówkowej potencjału). Natomiast zmniejszenie pobudliwości oznaczało wydłużenie czasu trwania potencjałów. Uzyskane wyniki sugerują, że zaobserwowane zmiany pobudliwości interneuronów mogą wiązać się ze zmianami przewodnictwa jonowego odpowiedzialnego za czas trwania potencjału czynnościowego.

Kolejne badania z wykorzystaniem metod optogenetycznych wykazały, że warunkowanie (ale nie pseudowarunkowanie) powoduje zwiększenie hamowania sąsiadujących neuronów pobudzających przez Int-SOM i Int-PV, ale nie Int-VIP. Wyniki te wskazują, że zmiany pobudliwości własnej interneuronów oraz zmiany hamowania synaptycznego pochodzącego od tych interneuronów mogą być rozbieżne.

Podsumowując, uzyskane wyniki pokazują, że zarówno uczenie asocjacyjne, jak i pseudowarunkowanie prowadzą do plastycznych zmian aktywności wszystkich klas badanych interneuronów GABAergicznyc. W ten sposób zmiany pobudliwości własnej można postrzegać jako powszechny mechanizm plastyczności interneuronów GABAergicznyc zachodzący w skutek różnych form uczenia – warunkowania lub pseudowarunkowania. Zaobserwowane modyfikacje pobudliwości własnej mogą wpływać na sumowanie synaptyczne, przetwarzanie informacji sensorycznej, kontrolę precyzji wyładowań komórek pobudzających i regulację na wyjściu sygnałów przekazywanych do wyższych warstw kory baryłkowej.

Abstract

The cortical neural network consists of excitatory glutamatergic cells and inhibitory GABAergic interneurons. GABAergic cells regulate the flow of information in local neural networks, affecting the excitability of glutamatergic cells, being responsible for filtering the input signal and controlling the information output. In terms of expression of molecular markers, GABAergic neurons form three classes of cells: somatostatin (Int-SOM), parvalbumin (Int-PV) interneurons, and those expressing the 5HT_{3a} ionotropic serotonin receptor. The last class is divided into interneurons containing vasoactive intestinal polypeptide (Int-VIP) and cells not containing this protein.

Many studies indicate a wide role of various classes of GABAergic interneurons in processes related to learning, memory formation, as well as its coding and expression. However, less attention has been paid to plastic changes induced by learning within different classes of interneurons. The research included in this dissertation was intended to reveal whether a simple form of learning in mice leads to plastic changes in the electrophysiological activity of three types of GABAergic cells in the layer IV of the primary somatosensory (barrel) cortex: Int-SOM, Int-PV, and Int-VIP.

For this purpose, one group of animals was subjected to a conditioning procedure consisting of the simultaneous application of a conditioned stimulus, tactile stimulation of the row of whiskers, and an unconditioned electric shock to the tail. A second group of mice underwent a pseudoconditioning procedure in which the electrical stimulus was not time-bound to vibrissae stimulation, but delivered randomly. The last group, naïve animals, has not been subjected to any form of manipulation. One day after the last session of procedures, electrophysiological recordings were carried out from single neurons (whole-cell patch-clamp) in brain slices in layer IV of sensory representations (barrels) corresponding to the stimulated rows of vibrissae.

Experiments showed an increase in intrinsic excitability of Int-SOM in conditioned animals compared to pseudoconditioned and naïve animals. In contrast, the excitability of Int-PV was reduced in pseudoconditioned mice compared to other groups of mice. Excitability of Int-VIP, which were characterized by accommodation of discharges, was found to be reduced in pseudoconditioned mice compared to conditioned but not naïve mice. Analyses of the action potentials' shapes mainly showed that the increase in the excitability of interneurons is associated with the shortening of the duration of individual action potentials (reduced half-width of the potential). On the other hand, a decrease in excitability meant an increase in

the duration of the potentials. The obtained results suggest that the observed changes in the excitability of interneurons may be associated with changes in ionic conductivity responsible for the duration of the action potential.

Subsequent studies using optogenetic methods showed that conditioning (but not pseudoconditioning) results in enhanced inhibition of adjacent excitatory neurons by Int-SOM and Int-PV, but not Int-VIP. These results indicate that changes in the intrinsic excitability of interneurons and changes in synaptic inhibition coming from these interneurons may be divergent.

In conclusion, the obtained results show that both associative learning and pseudoconditioning lead to plastic changes in the activity of all classes of GABAergic interneurons studied. In this way, changes in intrinsic excitability can be seen as a common mechanism of plasticity of GABAergic interneurons occurring as a result of various forms of learning - conditioning or pseudoconditioning. The observed modifications of intrinsic excitability may affect synaptic summation, processing of sensory information, control of the precision of excitatory cell discharges, and regulation of the output of signals transmitted to the higher layers of the barrel cortex.