

Dominik Kanigowski

**Zmiany plastyczne wybranych klas korowych interneuronów
hamujących zachodzące pod wpływem uczenia**

Praca doktorska
wykonana w Pracowni Neurobiologii
i Pracowni Elektrofizjologii
Instytutu Biologii Doświadczalnej
im. M. Nenckiego PAN

PROMOTOR:

**Dr hab. Joanna Urban-Ciećko,
prof. Instytutu Nenckiego PAN**

Warszawa, 2023



NARODOWE CENTRUM NAUKI

Podziękowania

Chciałbym szczerze podziękować dr hab. Joannie Urban-Ciećko za możliwość realizacji badań i szansę naukowego rozwoju. Dziękuję za poświęcony czas w trakcie moich studiów doktoranckich oraz za cierpliwość, w okresie gdy pisałem niniejszą rozprawę. Dziękuję za wszelkie korekty i uwagi odnośnie wstępnego tekstu rozprawy doktorskiej. Myślę, że dzięki nim praca jest znacznie łatwiejsza w odbiorze i trafniej pozwala odczytać myśli autora.

Dziękuję również prof. dr. hab. Leszkowi Kaczmarkowi za możliwość pracy i nauki w jego laboratorium.

Gorąco dziękuję wszystkim, którzy wspierali mnie emocjonalnie podczas całego okresu studiów doktoranckich: rodzinie, przyjaciółom, kolegom i ukochanym zwierzętom.

Praca została sfinansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, Sonata Bis UMO-2015/18/E/NZ4/00721, którego kierownikiem jest dr hab. Joanna Urban-Ciećko, prof. Instytutu Nenckiego PAN.

Spis treści

Streszczenie	7
Abstract	9
Alfabetyczny wykaz stosowanych skrótów	11
1. Wstęp	14
1.1. System GABAergiczny	15
1.1.1. Interneurony somatostatynowe (Int-SOM)	17
1.1.2. Interneurony parwalbuminowe (Int-PV)	21
1.1.3. Interneurony zawierające wazoaktywny polipeptyd jelitowy (Int-VIP)	25
1.2. Kora baryłkowa	30
1.3. Plastyczność neuronalna	37
1.4. Udział korowych interneuronów GABAergicznych w plastyczność wywołanej uczeniem	44
1.5. Plastyczność układu GABAergicznego wywołana warunkowaniem klasycznym – charakterystyka modelu badawczego	47
2. Cele pracy	50
3. Materiały i metody	51
3.1. Zwierzęta	51
3.2. Procedury wykonywane na zwierzętach	52
3.2.1. Przyzwyczajanie zwierząt do unieruchomienia	52
3.2.2. Grupa zwierząt kontrolnych - Naiwnych	52
3.2.3. Grupa zwierząt warunkowanych - CS+UCS	52
3.2.4. Grupa zwierząt pseudowarunkowanych - Pseudo.	53
3.3. Preparacja skrawków mózgu myszy	54
3.4. Identyfikacja wybranych typów interneuronów	56
3.5. Rejestracje elektrofizjologiczne z pojedynczych neuronów metodą <i>whole-cell patch-clamp</i>	58

3.5.1. Rejestracje potencjału spoczynkowego, oporu dostępowego i oporu wejściowego.....	60
3.5.2. Rejestracja i analiza pobudliwości własnej interneuronów	60
3.5.3. Analiza parametrów kształtów APs i adaptacji wyładowań.....	62
3.5.4. Rejestracje i analiza aktywności spontanicznej	65
3.5.5. Rejestracje i analiza sEPSCs.....	65
3.6. Rejestracje z neuronów pobudzających.....	66
3.6.1. Identyfikacja neuronów pobudzających	66
3.6.2. Rejestracje i analiza eIPSCs oraz frakcji unerwianych komórek pobudzających przez Int-VIP.....	66
3.7. Niespecyficzna ekspresja rekombinazy Cre u myszy PV-Cre x Ai14 oraz PV-Cre x Ai32	68
3.8. Analiza statystyczna	70
4. Wyniki	72
4.1.1. Charakterystyka populacji Int-SOM w IV warstwie kory baryłkowej myszy	72
4.1.2. Brak zmian w podstawowych parametrach elektrofizjologicznych Int-SOM-LTS.....	73
4.1.3. Wpływ uczenia na pobudliwość własną Int-SOM-LTS	74
4.1.4. Wpływ uczenia na parametry kształtu potencjałów czynnościowych Int-SOM-LTS.....	77
4.1.5. Brak zmian w aktywności spontanicznej Int-SOM-LTS	80
4.1.6. Wpływ uczenia na pobudzające przekąźnictwo synaptyczne dochodzące do Int-SOM-LTS.....	81
4.1.7. Wpływ uczenia na hamowanie neuronów pobudzających IV warstwy przez Int-SOM	83
4.2.1. Charakterystyka populacji Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej myszy .	85
4.2.2. Wpływ uczenia na podstawowe parametry elektrofizjologiczne Int-PV.....	87
4.2.3. Wpływ uczenia na pobudliwość własną Int-PV	88

4.2.4. Wpływ uczenia na parametry kształtu potencjałów czynnościowych Int-PV	91
4.2.5. Brak zmian w aktywności spontanicznej Int-PV	93
4.2.6. Wpływ uczenia na pobudzające przekaźnictwo synaptyczne dochodzące do Int-PV.....	94
4.2.7. Wpływ uczenia na hamowanie neuronów pobudzających IV warstwy przez Int-PV	96
4.3.1. Charakterystyka populacji Int-VIP w IV warstwie kory baryłkowej myszy	98
4.3.2. Wpływ uczenia na podstawowe parametry elektrofizjologiczne Int-VIP-AC	100
4.3.3. Wpływ uczenia na pobudliwość własną Int-VIP-AC.....	101
4.3.4. Wpływ uczenia na parametry kształtu potencjałów czynnościowych Int-VIP-AC.....	103
4.3.5. Brak zmian w aktywności spontanicznej Int-VIP-AC.....	106
4.3.6. Brak zmian w pobudzającym przekaźnictwie synaptycznym dochodzącym do Int-VIP-AC	107
4.3.7. Wpływ uczenia na podstawowe parametry elektrofizjologiczne Int-VIP-LTS	109
4.3.8. Brak zmian w pobudliwości własnej Int-VIP-LTS.....	110
4.3.9. Wpływ uczenia na parametry kształtu potencjałów czynnościowych Int-VIP-LTS.....	112
4.3.10. Brak zmian w aktywności spontanicznej Int-VIP-LTS	114
4.3.11. Brak zmian w pobudzającym przekaźnictwie synaptycznym dochodzącym do Int-VIP-LTS.....	115
4.3.12. Brak zmian w unerwieniu neuronów pobudzających IV warstwy przez Int-VIP.....	117
5. Dyskusja.....	120
5.1. Podstawy plastyczności pobudliwości własnej.....	120

5.2. Warunkowanie prowadzi do wzrostu pobudliwości Int-SOM-LTS i zwiększenia hamowania neuronów pobudzających przez Int-SOM.....	126
5.3. Pseudowarunkowanie prowadzi do spadku pobudliwości Int-PV.....	132
5.4. Warunkowanie i pseudowarunkowanie skutkują zmianami niektórych parametrów elektrofizjologicznych Int-VIP-AC	141
5.5. Hipotetyczny wpływ obserwowanych zmian na lokalną sieć IV warstwy kory baryłkowej	146
6. Podsumowanie i wnioski	150
7. Bibliografia	152
8. Spis publikacji własnych	202

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. Funkcje te realizowane są przez wiele różnych, fizjologicznie i molekularnie odrębnych, wyspecjalizowanych klas komórek GABAergicznych. Pod względem ekspresji znaczników molekularnych neurony GABAergiczne tworzą trzy klasy komórek: interneurony somatostatynowe (Int-SOM), parwalbuminowe (Int-PV) i ekspresyjące jonotropowy receptor serotoninowy 5HT_{3a}. Ostatnia klasa dzieli się dodatkowo na interneurony zawierające wazoaktywny polipeptyd jelitowy (Int-VIP) i komórki nie zawierające tego białka.

Fundamentalną własnością mózgu jest zdolność do uczenia się i pamięci. 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 (barylkowej): 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 (barylkach) 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 analiza własności elektrofizjologicznych Int-VIP u myszy kontrolnych (naiwnych) pokazała znaczne zróżnicowanie tej klasy interneuronów pod względem wzorów wyładowań. Stwierdzono, że 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 GABAergicznych. W ten sposób zmiany pobudliwości własnej można postrzegać jako powszechny mechanizm plastyczności interneuronów GABAergicznych 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. These functions are carried out by many different, physiologically, and molecularly distinct, specialized classes of GABAergic cells. 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 additionally divided into interneurons containing vasoactive intestinal polypeptide (Int-VIP) and cells not containing this protein.

A fundamental property of the brain is the ability to learn and remember. 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. The excitability of Int-PV was reduced in pseudoconditioned mice compared to other groups of mice. However, the analysis of electrophysiological properties of Int-VIP in control (naïve) mice showed a significant diversity of this class of interneurons in terms of spiking patterns.

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.

Alfabetyczny wykaz stosowanych skrótów

5HT3aR	jonotropowy receptor 5-hydroksytryptaminy/serotoniny (ang. <i>ionotropic 5-hydroxytryptamine/serotonin 3a receptor</i>)
AC	wzór wyładowań z akomodacją (ang. <i>accommodating</i>)
ACSF/mACSF	sztuczny płyn mózgowo-rdzeniowy (ang. <i>artificial cerebrospinal fluid</i>) /modyfikowany ACSF
AHP	hiperpolaryzacja po potencjale czynnościowym (ang. <i>after-hyperpolarization</i>)
AMPA	kwas α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolopropionowy (ang. <i>α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid</i>)
AP	potencjał czynnościowy (ang. <i>action potential</i>)
CaMKII	kinaza białkowa zależna od Ca^{2+} /kalmoduliny (ang. <i>Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase II</i>)
ChR2	rodopsyna 2 (ang. <i>channel rhodopsin 2</i>)
Cre	rekombinaza Cre (ang. <i>causes recombination/cyclization recombinase</i>)
CS	bodziec warunkowy (ang. <i>conditioned stimulus</i>)
eIPSCs	wywołane prądy postsynaptyczne hamujące (ang. <i>evoked inhibitory postsynaptic currents</i>)
EPSCs	postsynaptyczne prądy pobudzające (ang. <i>excitatory postsynaptic currents</i>)
EPSPs	postsynaptyczne potencjały pobudzające (ang. <i>excitatory postsynaptic potentials</i>)
EYFP	białko wzmocnionej żółtej fluorescencji (ang. <i>enhanced yellow fluorescent protein</i>)
FS, FS +reb/-reb	wzór z szybkimi wyładowaniami (ang. <i>fast-spiking</i>), komórka ze wzorem wyładowań typu <i>fast-spiking</i> i obecnością (+) wyładowań „rykoszetowych” (ang. <i>rebound spikes</i>) lub (-) brakiem tych wyładowań
GABA	kwas gamma-aminomasłowy (ang. <i>gamma-aminobutyric acid</i>)
GFP	białko zielonej fluorescencji (ang. <i>green fluorescent protein</i>)
GPCR	receptor sprzężony z białkiem G (ang. G protein-coupled receptor)

Int-5HT3aR	interneurony ekspresujące jonotropowy receptor 5-hydroksytryptaminy/serotoniny 3a (ang. <i>ionotropic 5-hydroxytryptamine/serotonin 3a receptor expressing interneurons</i>)
Int-PV	interneurony zawierające parwalbuminę (ang. <i>parvalbumin containing interneurons</i>)
Int-SOM, Int-SOM-LTS	interneurony zawierające somatostatynę (ang. <i>somatostatin containing interneurons</i>), interneurony zawierające somatostatynę ze wzorem wyładowań typu <i>low-threshold spiking</i> – wyładowaniami niskoprogowymi
Int-VIP, Int-VIP-AC/ Int-VIP-LTS	interneurony zawierające wazoaktywny polipeptyd jelitowy (ang. <i>vasoactive intestinal polypeptide containing interneurons</i>), interneurony zawierające wazoaktywny polipeptyd jelitowy z akomodującym wzorem wyładowań (ang. <i>accommodating</i>)/ typu <i>low-threshold spiking</i> – wyładowaniami niskoprogowymi
IPSCs	postsynaptyczne prądy hamujące (ang. <i>inhibitory postsynaptic currents</i>)
IR	nieregularny wzór wyładowań (ang. <i>irregular spiking</i>)
loxP	sekwencja DNA (ang. <i>locus of crossover [x] in P1 bacteriophage</i>) rozpoznawana przez rekombinazę Cre
LTD	długotrwałe osłabienie synaptyczne (ang. <i>long-term depression</i>)
LTP	długotrwałe wzmocnienie synaptyczne (ang. <i>long-term potentiation</i>)
LTS	wzór wyładowań niskoprogowych (ang. <i>low-threshold spiking</i>)
MGE	część przyśrodkowa wyniosłości zwojowej (ang. <i>medial ganglionic eminence</i>)
NMDA	kwas N-metylo-D-asparaginowy (ang. <i>N-methyl-D-aspartic acid</i>)
Non-VIP	interneurony 5HT3aR nie zawierające wazoaktywnego polipeptydu jelitowego (ang. <i>non-vasoactive intestinal polypeptide</i>)
PO	okolica przedwzrokowa (ang. <i>preoptic region</i>)
PV	parwalbumina (ang. <i>parvalbumin</i>)
sEPSCs	spontaniczne postsynaptyczne prądy pobudzające (ang. <i>spontaneous excitatory postsynaptic currents</i>)
SOM	somatostatyna (ang. <i>somatostatin</i>)
tdTomato	białko czerwonej fluorescencji pochodzące od koralowców <i>Discosoma</i> sp. (ang. <i>tandem dimer Tomato</i>)

UCS	bodziec bezwarunkowy (ang. <i>unconditioned stimulus</i>)
VIP	wazoaktywny polipeptyd jelitowy (ang. <i>vasoactive intestinal polypeptide</i>)
VPM	jądro brzuszne tylnoprzyszrodkowe (ang. <i>ventral posteromedial nucleus</i>)

1. Wstęp

Najmłodszą ewolucyjnie strukturą mózgu jest kora nowa. Ta część przodomózgowia ssaków składa się z sześciu warstw organizujących połączenia między dwoma typami komórek nerwowych: pobudzającymi i hamującymi. Komórki pobudzające wydzielają glutaminian, z kolei komórki hamujące wydzielają kwas γ -aminomasłowy (ang. *gamma-aminobutyric acid*, GABA) (Tanaka i Nakajima, 2012). Wspomniane typy komórek tworzą dwie odrębne populacje, które różnią się nie tylko pod względem wydzielanego neuroprzekaźnika, ale także odróżnia je profil ekspresji białek, architektura, własności elektrofizjologiczne, i najważniejsze, odmienne funkcje jakie te dwa typy komórek pełnią w zdrowo funkcjonującym mózgu (Ascoli i in., 2008; DeFelipe i Fariñas, 1992). Wydzielany przez komórki pobudzające glutaminian łączy się z trzema typami receptorów/kanałów jonotropowych: receptorem kwasu α -amino-3-hydroksy-5-metylo-4-izoksazolo-propionowego (ang. *α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor*, AMPA), receptorem N-metylo-D-asparaginowym (ang. *N-methyl-D-aspartate receptor*, NMDA) i receptorem kainianowym (ang. *kainate receptor*) (Meldrum, 2000). Związanie glutaminianu przez te receptory powoduje zmianę konformacji białka prowadzącą do otwarcia kanału i napłynięcia do wnętrza komórki jonów Na^+ i Ca^{2+} (Bigge, 1999; Meldrum, 2000). Napływ dodatnio naładowanych jonów generuje szybki, postsynaptyczny prąd pobudzający (ang. *excitatory postsynaptic current*, EPSC) odpowiedzialny za raptowną, częściową depolaryzację błony komórkowej, która może prowadzić do aktywacji kanałów sodowych zależnych od napięcia i w efekcie skutkować całkowitą depolaryzacją komórki (Binder i in., 2009; Kandel, 2000). Natomiast wydzielany przez komórki hamujące kwas γ -aminomasłowy łączy się ze swoistymi dla siebie receptorami/kanałami jonotropowymi GABA_A lub receptorami metabotropowymi GABA_B . Przy potencjale błonowym mniej negatywnym niż potencjał równowagi dla Cl^- (w warunkach fizjologicznych najczęściej potencjał równowagi wynosi: $E_{\text{Cl}^-} = -70 \text{ mV}$) związanie GABA przez receptory GABA_A powoduje otwarcie kanału i napłynięcie do wnętrza komórki jonów Cl^- (Kuriyama i in., 1993). Napływ jonów Cl^- do wnętrza komórki generuje szybki, postsynaptyczny prąd hamujący (ang. *inhibitory postsynaptic current*, IPSC) skutkujący hiperpolaryzacją błony (Binder i in., 2009). Natomiast przy potencjale błony równym potencjałowi odwrócenia dla Cl^- aktywacja receptorów GABA_A będzie prowadzić wyłącznie do zwiększenia przewodnictwa elektrycznego błony i zmniejszenia jej pobudliwości poprzez mechanizm zwany w literaturze anglojęzycznej *shunting inhibition* (Paulus i Rothwell, 2016).

Pomimo tego samego mechanizmu działania, komórki GABAergiczne charakteryzują się ogromnym zróżnicowaniem pod względem m.in. własności morfologicznych, molekularnych i elektrofizjologicznych (Tremblay i in., 2016). Neurony te różnią się pochodzeniem i rozwojem podczas embriogenezy, a także funkcją pełnioną w układzie nerwowym (Lim i in., 2018; Markram i in., 2004). Pomimo dużej różnorodności, komórki te stanowią korową mniejszość, ich liczba sięga – w zależności od gatunku – zaledwie 10-30% wszystkich neuronów budujących korę (Markram i in., 2004; Meyer i in., 2011). Ta mniejszość tworzy tzw. system GABAergiczny.

1.1. System GABAergiczny

Korowy system GABAergiczny tworzą zasadniczo komórki, których aksony rozgałęziają się lokalnie i dlatego nazywane są interneuronami. Historycznie komórki te należą do typu II neuronów obserwowanych w preparatach barwionych metodą Golgiego – neurony z krótkimi aksonami (Steriade, 1978). Pozostałe komórki GABAergiczne to, stanowiące zaledwie 0,5% całej populacji, neurony projekcyjne (Tamamaki i Tomioka, 2010).

Interneurony GABAergiczne (w skrócie interneurony) mogą różnić się profilami ekspresji białek: kanałów, receptorów, neuropeptydów, hormonów czy białek wiążących wapń (Kawaguchi i Kubota, 1997; Kubota i in., 2011; Le Moine i Gaspar, 1998; Toledo-Rodriguez i in., 2004). Morfologiczne różnice mogą obejmować wielkość i kształt ciała komórki, a także sposób i okazałość ramifikacji dendrytów oraz aksonów. Ponadto anatomiczne różnice dotyczą miejsc unerwienia neuronu docelowego – ciała komórki, dendrytu lub części inicjalnej aksonu (Kawaguchi i Kubota, 1997; Markram i in., 2004). Elektrofizjologicznie, interneurony cechują się szerokim wachlarzem wzorów wyładowań, niejednakowym oporem elektrycznym wejścia (ang. *input resistance/membrane resistance*) oraz zróżnicowanymi wartościami stałej czasowej błony (ang. *time constant*) (Kubota, 2014; H. Xu i in., 2013; Zaitsev i in., 2005). Różnice także obejmują własności ich pobudzających wejść synaptycznych, wejścia te mogą podlegać czasowemu osłabieniu (ang. *short-term depression*) lub wzmocnieniu (ang. *short-term facilitation*) w odpowiedzi na powtarzające się pobudzenie (Reyes i in., 1998). Powyższe cechy, a w szczególności pasywne i aktywne własności błony, kinetyka wejść pobudzających oraz miejsce unerwienia neuronu docelowego, wpływają na charakterystykę przekazu i filtrowania informacji, co z kolei determinuje rolę jaką dany interneuron pełni w wybranym obwodzie nerwowym (Reyes i in., 1998; Silberberg

i Markram, 2007). Mianowicie, podczas gdy jeden typ komórek GABAergicznych może pełnić rolę sensora wykrywającego równoczesną aktywność kilku komórek pobudzających w wąskich ramach czasowych, drugi typ przeciwnie, może mieć charakter synchronizatora i sumować pobudzenie cechujące się niższą częstotliwością i dochodzące do komórki w szerszym przedziale czasowym (Silberberg i Markram, 2007). Ta bogata różnorodność własności interneuronów pozwala im pełnić wiele ważnych funkcji w ośrodkowym układzie nerwowym, takich jak: modulacja w szerokim zakresie aktywności obwodów nerwowych, utrzymanie balansu między pobudzeniem a hamowaniem, synchronizacja i generacja rytmów korowych oraz regulacja stanów mózgowych, kontrola precyzji wyładowań komórek pobudzających, selektywne przetwarzanie bodźców czy udział w plastyczności związanej z uczeniem (Cardin i in., 2009; Liguz-Leczna i in., 2015; Pouille i in., 2009; Runyan i in., 2010; Sachidhanandam i in., 2013). Powyższe przykłady pokazują, że system GABAergiczny obok systemu glutaminianergicznego pełni dopełniającą, równoważącą i niezbędną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu mózgu. Nie powinno dziwić zatem, że w wielu chorobach centralnego układu nerwowego obserwuje się zmiany w funkcjonowaniu systemu GABAergicznego i zachwianie równowagi pomiędzy pobudzeniem a hamowaniem. Do chorób, w których przebiegu zaobserwowano niewłaściwe działanie systemu GABAergicznego, należą m.in.: choroba Alzheimera, choroba Parkinsona, epilepsja, schizofrenia, zaburzenia ze spektrum autyzmu, depresja i zaburzenia lękowe (Hirose, 2014; Page i Coutellier, 2019; W. Zhang i in., 2021).

Szerokie spektrum funkcji interneuronów GABAergicznych, a także dotkliwość chorób związanych z ich zaburzonym działaniem są przyczynami, dla których system GABAergiczny i jego podzespoły, czyli poszczególne klasy interneuronów, stanowią obecnie intensywne zainteresowanie neurobiologii. Ze względu jednak na bogatą różnorodność typów i podtypów interneuronów, a także stosunkowo niewielką ich reprezentację w całej populacji neuronów, studia nad systemem GABAergicznym stanowią poważne wyzwanie dla nauki. W początkowych okresach badań dużą trudność sprawiała klasyfikacja poszczególnych grup interneuronów, która w przeważającej mierze opierała się na własnościach elektrofizjologicznych – wzorach wyładowań – i morfologicznych: ramifikacji dendrytów i aksonów oraz domenach komórkowych unerwianych przez akson interneuronu. Klasyfikacja ta była jednak nieścisła i pozostawiała dużą dowolność interpretacji i opisu badanych komórek. Uściślenie terminologii i klasyfikacji stało się niezbędnym elementem na drodze do

systematycznego opisu i wymiany rzetelnej informacji pomiędzy badaczami oraz przyspieszenia badań nad systemem GABAergicznym (Ascoli i in., 2008; DeFelipe i in., 2013). Jednocześnie dzięki rozwojowi i upowszechnieniu metod biologii molekularnej starano się klasyfikować interneurony w oparciu o znaczniki molekularne (Cauli i in., 1997; Demeulemeester i in., 1991; Kosaka i in., 1987; Rogers, 1992; Somogyi i in., 1984). Usiłowano korelować różne własności elektrofizjologiczne i anatomiczne z profilami ekspresji wielu znaczników molekularnych, aby wyodrębnić homogenne podklasy interneuronów, co umożliwiłoby dokładne sklasyfikowanie całej ich populacji (Cauli i in., 1997; Gouwens i in., 2020; Karagiannis i in., 2009; Toledo-Rodriguez i in., 2004; Y. Wang i in., 2002). Prace nad klasyfikacją interneuronów ciągle trwają, a poszukiwania nowych znaczników specyficznych dla danej podklasy komórek GABAergicznych jeszcze się nie zakończyły. Obecnie interneurony GABAergiczne dzieli się na trzy główne klasy na podstawie występowania w komórce jednego z trzech znaczników molekularnych: somatostatyny (ang. *somatostatin*, SOM), parwalbuminy (ang. *parvalbumin*, PV) i jonotropowego receptora 5-hydroksy tryptaminy/serotoniny 3a (ang. *ionotropic 5-hydroxytryptamine/serotonin 3a receptor*, 5HT3aR). Powyższe trzy grupy komórek stanowią prawie 100% populacji interneuronów w korze mózgowej (Rudy i in., 2011). Dodatkowo interneurony ekspresyjujące 5HT3aR (Int-5HT3aR) dzieli się na dwie podklasy: komórki zawierające wazoaktywny polipeptyd jelitowy (ang. *vasoactive intestinal polypeptide*, VIP) i nie zawierające tego polipeptydu (ang. *non-vasoactive intestinal polypeptide*, Non-VIP).

1.1.1. Interneurony somatostatynowe (Int-SOM)

Somatostatyna jest niewielkim peptydem występującym w trzech wariantach: SS-14, SS-28 i SS-28(1-12). Wszystkie warianty powstają z tego samego prohormonu – preprosomatostatyny (Benoit i in., 1985). Nie wiadomo jednak, czy wszystkie trzy formy SOM są aktywne fizjologicznie. Dotychczas ustalono fizjologiczną aktywność SS-14 i SS-28. Nie jest pewne, czy SS-28(1-12) pełni faktyczną funkcję w organizmie, czy jest jedynie nieaktywnym peptydem powstałym w trakcie obróbki potranslacyjnej (Benoit i in., 1985; Watson i Pittman, 1988). Wiadomo jednak, że tylko SS-14 i SS-28 oddziałują na receptory somatostatynowe (Epelbaum i in., 1994). W organizmie znajduje się 5 receptorów sprzężonych z białkiem G (ang. *G protein-coupled receptor*, GPCR), które wiążą SOM i działają za pośrednictwem obszernej puli wtórnych przekaźników sygnałowych (Patel, 1999). Jako neurotransmitter i neuromodulator SOM jest wydzielana

przez część interneuronów GABAergicznym i pełni głównie funkcję hamującą poprzez aktywację różnych kanałów potasowych (Liguz-Lecznar i in., 2016; Tallent i Siggins, 1997).

Interneurony zawierające somatostatynę (ang. *somatostatin containing interneurons*, Int-SOM) pochodzą z komórek prekursorowych powstałych w części przyśrodkowej wyniosłości zwojowej (ang. *medial ganglionic eminence*, MGE) i przyległej okolicy przedwzrokowej (ang. *preoptic region*, PO) – podkorowych fragmentów tworzącego się mózgu (Lim i in., 2018). U myszy w okresie embrionalnym i w pierwszych dniach po urodzeniu komórki prekursorowe Int-SOM migrują z MGE i PO do tworzącej się kory (Lim i in., 2018). Int-SOM powstałe z tych komórek będą stanowiły około 30% całej populacji korowych interneuronów GABAergicznym (Tremblay i in., 2016). Int-SOM pomimo tego, że wszystkie wywodzą się z MGE i PO, nie stanowią homogennej grupy komórek i dzielą się na komórki typu Martinotti i nie-Martinotti.

Komórki typu Martinotti pierwszy raz zostały opisane przez Carlo Martinottiego w 1889 roku (Martinotti, 1889). Komórki te są zazwyczaj owalne lub wrzecionowate i mogą dawać początek dwóm słabiej rozgałęziającym się dendrytom, co sprawia, że mają dwubiegunową morfologię (ang. *bipolar morphology*) (Y. Wang i in., 2004). Komórki te najczęściej jednak posiadają 2-4 dendryty obficie rozgałęziające się w dwóch przeciwnych kierunkach i tworzące „pęczki” (ang. *bitufted morphology*) (Markram i in., 2004; Y. Wang i in., 2004). Niektóre komórki Martinotti mogą również posiadać dendryty rozgałęziające się w kilku różnych kierunkach – wielobiegunowa morfologia (ang. *multipolar morphology*) (Ascoli i in., 2008; Tremblay i in., 2016). Komórki Martinotti mają jedne z najsilniej rozgałęziających się drzewek dendrytycznych spośród interneuronów (Y. Wang i in., 2004). Komórki te występują w warstwach II-VI, przy czym najliczniejsze są w warstwie V, i stanowią około 16,5% wszystkich interneuronów w korze somatosensorycznej gryzoni (Y. Ma i in., 2006; Rudy i in., 2011; Y. Wang i in., 2004). Tworzą one również dominującą grupę Int-SOM w warstwie II/III oraz V-VI, co sprawia, że są najliczniejszymi Int-SOM w korze (H. Xu i in., 2013). Aksony tych komórek nadają im bardzo charakterystyczny kształt, przechodząc pionowo przez korę do jej I warstwy i unerwiając trzony i kolce dystalnych dendrytów komórek glutaminianergicznym (Y. Wang i in., 2004). Dodatkową charakterystyką tych aksonów są tworzone przez nie kolbki synaptyczne mające kształt podobny do kolców (Y. Wang i in., 2004). Aksony komórek Martinotti docierając do I warstwy, często tworzą długie

boczne odgałęzienia rozchodzące się horyzontalnie, niekiedy nawet na odległość sięgającą 2 milimetrów, i unerwiają dendryty komórek glutaminianergicznym położonych w sąsiednich kolumnach. Aksony te tworzą również lokalne rozgałęzienia, a także często wysyłają kilka odgałęzień do niższych warstw (Y. Ma i in., 2006; Y. Wang i in., 2004).

Wszystkie komórki typu Martinotti zawierają SOM, ale około połowa z nich zawiera dodatkowe markery dla interneuronów (Y. Wang i in., 2004). Komórki te mogą ekspresymować kalbindynę, kalretyninę, neuropeptyd Y, cholecystokininę, reelinę i prawdopodobnie preprodynorfinę (DeFelipe, 1997; Kawaguchi i Kubota, 1997; Y. Ma i in., 2006; Pesold i in., 1999; Sohn i in., 2014; Y. Wang i in., 2004).

Komórki typu nie-Martinotti różnią się od komórek typu Martinotti w pierwszej kolejności brakiem aksonów, które wyraźnie by się rozgałęziały w I warstwie kory (Tremblay i in., 2016). Do tych komórek należą Int-SOM wyznakowane białkiem zielonej fluorescencji (ang. *green fluorescent protein*, GFP) w transgenicznej linii myszy X-94 (Y. Ma i in., 2006). Do komórek nie-Martinotti należy również część Int-SOM nie posiadających drzewka aksonalnego w I warstwie kory, wyznakowanych GFP w transgenicznej linii myszy GIN (Y. Ma i in., 2006; Oliva i in., 2000; Scheyltjens i Arckens, 2016; X. Zhou i in., 2020). Komórki nie-Martinotti występują, tak jak komórki Martinotti, w warstwie II-VI, przy czym najliczniej okupują warstwę IV i V, a następnie II/III (Y. Ma i in., 2006). Całościowo stanowią one jednak mniej liczną populację niż komórki Martinotti (H. Xu i in., 2013). Najnowsze badania wskazują jednak na pewne rozbieżności, ponieważ u gryzoni w IV warstwie I-rzędowej kory somatosensorycznej przeważający udział stanowią komórki nie-Martinotti, natomiast w IV warstwie I-rzędowej kory wzrokowej wszystkie Int-SOM to prawdopodobnie komórki Martinotti (Scala i in., 2019). Aksony komórek nie-Martinotti IV warstwy najobficiej rozgałęziają się w warstwie IV, jednocześnie tworząc część odgałęzień w warstwie II/III. Również aksony komórek występujących w warstwach V/VI obficie unerwiają warstwę IV, jednocześnie tworząc lokalne odgałęzienia. W przeciwieństwie do komórek Martinotti, aksony komórek nie-Martinotti bardzo rzadko opuszczają macierzystą kolumnę (Y. Ma i in., 2006; Nigro i in., 2018; H. Xu i in., 2013).

Ze względu na brak znacznika molekularnego specyficznego dla wszystkich komórek nie-Martinotti nie dysponujemy molekularnymi i elektrofizjologicznymi danymi, które obejmowałyby całą populację tych komórek i byłyby precyzyjne. Zarówno dane molekularne jak i elektrofizjologiczne dotyczące komórek nie-Martinotti były

uzyskiwane w oparciu o dwie wyżej wspomniane transgeniczne linie. Niestety żadna z tych linii nie obejmuje wszystkich komórek nie-Martinotti, a linia GIN dodatkowo obejmuje część komórek Martinotti (Y. Ma i in., 2006; Scheyltjens i Arckens, 2016; X. Zhou i in., 2020). Badania w oparciu o immunocytochemię i hybrydyzację *in situ* wskazują jedynie na brak kalbindyny w komórkach GFP pozytywnych linii X-94 – markera który obecny jest w części komórek Martinotti (Y. Ma i in., 2006; Naka i in., 2019). W pewnej frakcji komórek GFP pozytywnych linii GIN występuje kalbindyna lub neuropeptyd Y, co mogłoby wskazywać na obecność tych markerów w komórkach nie-Martinotti, jednak ze względu na fakt, że linia GIN obejmuje również komórki Martinotti, nie można być pewnym, czy obserwowane markery były związane wyłącznie z tą drugą klasą Int-SOM (Y. Ma i in., 2006). Najnowsze badania wskazują także na występowanie kalretyniny w niewielkiej subpopulacjach komórek nie-Martinotti (Nigro i in., 2018). Niewykluczone jest, że komórki nie-Martinotti mogą zawierać również inne markery spotykane w komórkach typu Martinotti (Tremblay i in., 2016).

Pod względem elektrofizjologicznym komórki Martinotti, jak i nie-Martinotti nie stanowią jednorodnych grup. Komórki obydwu klas mogą charakteryzować się kilkoma różnymi wzorami wyładowań (ang. *spiking pattern*) (wyniki, ryc. 4.1., str. 73.). Najczęściej spotykane są komórki wyładowujące się z akomodacją (ang. *accommodating pattern/adapting pattern*, AC), czyli zmniejszającą się częstotliwością wraz z przedłużającym się czasem wyładowań (Y. Ma i in., 2006; Nigro i in., 2018; Y. Wang i in., 2004). Ten typ wyładowań jest również nazywany w literaturze wyładowaniami niskoprogowymi (ang. *low-threshold spiking*, LTS) – zwłaszcza gdy komórka wykazuje również tzw. wyładowania „rykoszetowe” (ang. *rebound spikes*) (Ascoli i in., 2008; Rudy i in., 2011). Niektóre komórki Martinotti i nie-Martinotti mogą wyładowywać się również z bardzo dużą częstotliwością, powyżej 50 Hz – posiadają wtedy wzór z szybkimi wyładowaniami (ang. *fast-spiking*, FS) – lub mieć nieregularny wzór wyładowań (ang. *irregular spiking*, IR) charakteryzujący się występowaniem losowych przerw pomiędzy ciągami szybkich wyładowań (Y. Ma i in., 2006; Nigro i in., 2018; Y. Wang i in., 2004). Do charakterystycznych właściwości elektrofizjologicznych komórek Martinotti należy występowanie wyżej wymienionych wyładowań „rykoszetowych” – są to potencjały czynnościowe (ang. *action potentials*, APs) pojawiające się po nagłym powrocie potencjału błonowego komórki ze stanu silnie spolaryzowanego do poziomu zbliżonego potencjałowi spoczynkowemu (J. H. Goldberg i in., 2004; Y. Ma i in., 2006). Zjawisko to związane jest z obecnością kanałów wapniowych (typu T) zależnych od napięcia oraz

prądu dokomórkowego aktywowanego przez hiperpolaryzację (I_h) (Ascoli i in., 2010; J. H. Goldberg i in., 2004). Komórki nie-Martinotti w stosunku do komórek Martinotti mają znacząco mniejszy opór wejściowy, co powoduje, że rzadko występują u nich wyładowania „rykoszetowe” (Y. Ma i in., 2006; H. Xu i in., 2013). Dodatkowo część komórek Martinotti posiada dwufazową hiperpolaryzację po potencjale czynnościowym (ang. *afterhyperpolarization*, AHP) składającą się z szybkiego i wolnego komponentu (Beierlein i in., 2003; Y. Ma i in., 2006). Natomiast komórki nie-Martinotti najczęściej posiadają jednofazowe AHPs składające się tylko z szybkiego komponentu, co wraz z innymi pasywnymi własnościami elektrofizjologicznymi błony i znacznie szybszą częstotliwością wyładowań w stosunku do komórek Martinotti upodabnia je do interneuronów zawierających PV charakteryzujących się wzorem typu FS (Y. Ma i in., 2006; Nigro i in., 2018; H. Xu i in., 2013). Szacuje się, że około 10% Int-SOM może zawierać też PV (Hu i in., 2013).

1.1.2. Interneurony parwalbuminowe (Int-PV)

Parwalbumina jest niewielkim, kwaśnym, głównie wewnątrzkomórkowym białkiem, którego rolą w organizmie jest udział w przekaźnictwie informacji za pośrednictwem wapnia i buforowanie stężenia tego jonu w cytoplazmie (Permyakov i Uversky, 2022). W organizmie PV występuje w dwóch izoformach (α i β) częściowo różniących się sekwencją aminokwasową, ale posiadających bardzo zbliżoną strukturę III-rzędową (Permyakov i Uversky, 2022). PV należy do nadrodziny białek posiadających w III-rzędowej strukturze motyw dłoni EF (ang. *EF-hand*) odpowiedzialny za wiązanie jonów wapnia (Yáñez i in., 2012). W układzie nerwowym PV bierze udział w prawidłowym działaniu synaps tworzonych przez interneurony zawierające parwalbuminę (ang. *parvalbumin containing interneurons*, Int-PV) oraz prawdopodobnie reguluje transport aksonalny (Arif, 2009).

Int-PV wywodzą się z komórek powstałych w MGE i PO – tak jak Int-SOM (Lim i in., 2018). U dorosłych myszy populacja Int-PV stanowi dominującą grupę interneuronów – około 40% wszystkich interneuronów GABAergicznym znajdujących się w korze, przy czym najliczniej występują one w IV warstwie kory (Tremblay i in., 2016; X. Xu i in., 2010). Anatomicznie, populacja ta dzieli się na dwa główne typy: komórki koszyczkowe (ang. *basket cells*) i komórki kandelabrowe (ang. *chandelier cells*).

Komórki koszyczkowe swoją nazwę zawdzięczają odgałęzieniom aksonów, które unerwiają ciała i dendryty proksymalne innych neuronów – wiele takich komórek

unerwiając wspólnie komórkę docelową (najczęściej glutaminianergiczną lub parwalbuminową) tworzy wokół niej rodzaj „koszyczka” (Freund i in., 1983; X. Jiang i in., 2015; Markram i in., 2004). Komórki koszyczkowe można podzielić na trzy podklasy w zależności od morfologii ich dendrytów i aksonów: duże komórki koszyczkowe, inaczej klasyczne (ang. *large/classic basket cells*), małe komórki koszyczkowe (ang. *small basket cells*) i komórki koszyczkowe gniazdowe (ang. *nest basket cells*) (Druga, 2009; Markram i in., 2004). Do typowych Int-PV, za które uważa się interneurony posiadające wyładowania typu FS, należą duże komórki koszyczkowe i koszyczkowe gniazdowe (Rudy i in., 2011; Y. Wang i in., 2002). Duże komórki koszyczkowe mają najczęściej wielobiegunową morfologię i posiadają trzy lub więcej dendrytów rozgałęziających się promieniście we wszystkich kierunkach (Druga, 2009; Somogyi i in., 1983). Zdarzają się również wśród nich komórki o morfologii dwubiegunowej, typu *bitufted*, a także przypominające kształtem ciała komórkowego i morfologią dendrytów komórki piramidowe (DeFelipe i in., 2013; Markram i in., 2004). Aksony dużych komórek koszyczkowych rozgałęziają się obficie, tworząc zarówno poziome, jak i pionowe odgałęzienia unerwiające komórki z warstw znajdujących się poniżej i powyżej warstwy macierzystej oraz z sąsiednich i odległych kolumn (Kawaguchi, 1995; Somogyi i in., 1983; Y. Wang i in., 2002). Lokalnie aksony tych komórek tworzą niewiele rozgałęzień, które odchodzą pod ostrym kątem od aksonu macierzystego i tworzą stosunkowo niewiele kolbek aksonalnych (Markram i in., 2004; Y. Wang i in., 2002). Komórki koszyczkowe gniazdowe mają zazwyczaj nieregularny kształt ciała komórkowego, które daje początek promieniście rozprzestrzeniającym się dendrytom (Y. Wang i in., 2002). Swoją nazwę zawdzięczają natomiast nieregularnie rozgałęziającemu się aksonowi, który przeważnie tworzy lokalne odgałęzienia blisko ciała komórki dającej mu początek, co przypomina wyglądem nieregularne ptasie gniazdo (Gupta i in., 2000; Y. Wang i in., 2002). Odgałęzienia tworzone przez aksony powyższych komórek mają lekko zakrzywiony kształt i nieregularną długość, a gęstość kolbek synaptycznych, jak w przypadku dużych komórek koszyczkowych, również nie jest duża (Y. Wang i in., 2002).

Komórki koszyczkowe występują w warstwach II-VI i stanowią przeważającą frakcję Int-PV i GABAergicznym w korze (X. Jiang i in., 2015; Kawaguchi i Kubota, 1997; Kubota, 2014; Uematsu i in., 2008).

Pod względem molekularnym dwa powyższe typy komórek koszyczkowych, oprócz PV mogą zawierać również inne markery: kalbindynę, neuropeptyd Y,

cholecystokininę, substancję P, wyjątkowo SOM i kalretyninę, natomiast nie zawierają VIP (Cauli i in., 1997; Markram i in., 2004; Rudy i in., 2011; Vruwink i in., 2001; Y. Wang i in., 2002). Ze względu na brak współwystępowania PV z reeliną, komórki koszyczkowe również prawdopodobnie nie ekspresują reeliny (Pesold i in., 1999).

Neurony kandelabrowe zawdzięczają swoje miano posiadanym przez nie pionowym zakończeniom aksonalnym, na których znajdują się szeregi kolbek aksonalnych (najczęściej 3-5 w szeregu), co razem sprawia, że neurony te przypominają swoim wyglądem wieloramienne świeczniki (Inan i in., 2013; Markram i in., 2004). Komórki te w literaturze występują również pod nazwą neuronów aksono-aksonalnych (ang. *axo-axonic cells*), ponieważ wyspecjalizowały się w unerwianiu wzgórków aksonalnych docelowych komórek postsynaptycznych. To stawia te interneurony na uprzywilejowanej pozycji w decydowaniu o tym, czy sygnał przychodzący do unerwianej przez nie komórki zostanie przekazany dalej (Inan i Anderson, 2014; Kawaguchi i Kubota, 1997; Somogyi, 1977).

Neurony kandelabrowe mogą mieć wielobiegunową lub dwubiegunową morfologię, a ich aksony tworzą obfite lokalne rozgałęzienia o dużym zagęszczeniu kolbek aksonalnych (Markram i in., 2004; Taniguchi i in., 2013). Neurony te posiadają również bogato rozgałęzione drzewka dendrytyczne zarówno w warstwie macierzystej, jak i warstwach znajdujących się powyżej tej warstwy, przy czym drzewka dendrytyczne komórek II/III warstwy często wykazują charakterystyczną asymetrię, preferując I warstwę (X. Jiang i in., 2015; Taniguchi i in., 2013; Woodruff i in., 2011).

Neurony kandelabrowe stanowią znaczną mniejszość Int-PV, są spotykane we wszystkich warstwach, przy czym najobficiej występują w warstwie II i VI, a najrzadziej w IV i I (Inda i in., 2009; X. Jiang i in., 2015; Markram i in., 2004; Taniguchi i in., 2013; Wozny i Williams, 2011).

Badania na materiale od ludzi pokazały, że neurony kandelabrowe poza PV mogą zawierać również kalbindynę (del Río i DeFelipe, 1997; Markram i in., 2004). Jednocześnie doświadczenia immunocytochemiczne na szczurach i makakach wskazują, że neurony kandelabrowe nie zawierają reeliny i kalretyniny, jednak ze względu na brak informacji o liczbie komórek uwzględnionych w analizie lub niewielką liczbę analizowanych komórek dane te są niepewne (Pesold i in., 1999; Zaitsev i in., 2009). Należy także zaznaczyć, że pewna część neuronów kandelabrowych nie zawiera PV (Taniguchi i in., 2013; Zaitsev i in., 2009).

Pod względem elektrofizjologicznym, za typowe Int-PV uważa się komórki posiadające wyładowania typu FS, charakteryzujące się szybką częstotliwością wyładowań (>50 Hz), jednofazowym, szybkim AHP, krótko trwającym AP i brakiem lub niewielką adaptacją częstotliwości wyładowań (wyniki, ryc. 4.12., str. 85.) (Cauli i in., 1997; Kawaguchi, 1993, 1995). Przy mniejszym prądzie, depolaryzującym komórkę do poziomu jej potencjału progowego, wzór ten objawia się pojedynczym AP na początku depolaryzującego pulsu prądowego lub/i epizodami szybkich wyładowań przerywanymi brakami aktywności (Kawaguchi, 1993, 1995). Ten rodzaj wyładowań w literaturze pojawia się również pod nazwą nieakomodującego typu wyładowań i może posiadać trzy formy. Pierwsza, klasyczna (ang. *classical non-accommodating*), kiedy APs pojawiają się od początku do końca depolaryzującego pulsu prądowego ze zbliżoną częstotliwością. Druga, opóźniona (ang. *delay non-accommodating*), kiedy APs pojawiają się po pewnym czasie od początku depolaryzującego pulsu prądowego. Trzecia forma cechuje się początkowym, krótkim epizodem bardzo szybkich wyładowań, po którym następują APs o nieco wolniejszej częstotliwości (ang. *burst non-accommodating*) (Markram i in., 2004; Y. Wang i in., 2002). Inną charakterystyczną cechą komórek koszyzkowych, jak i kandelabrowych, jest ich niski opór wejściowy i szybka stała czasowa membrany. Parametry te osiągają skrajne wartości w Int-PV i zapewniają tym komórkom zdolność szybkiej odpowiedzi na przychodzący sygnał presynaptyczny (Kawaguchi, 1993, 1995; Y. Wang i in., 2002).

Komórki koszyzkowe i kandelabrowe różnią się pod względem niektórych własności elektrofizjologicznych. Zaobserwowano bowiem pewne różnice elektrofizjologiczne między neuronami kandelabrowymi a komórkami koszyzkowymi znajdującymi się w II/III warstwie mysiej kory somatosensorycznej (A. Woodruff i in., 2009). Neurony kandelabrowe odznaczały się m.in. wyższym oporem wejściowym, zwiększonymi wartościami stałej czasowej błony oraz niższą reobazą – minimalnym natężeniem prądu niezbędnego do indukcji APs – niż komórki koszyzkowe. Neurony kandelabrowe miały natomiast niższą od neuronów koszyzkowych średnią wartość reobazy i przy minimalnych natężeniach prądu niezbędnych do wywołania wyładowań krótszą latencję pierwszego AP od chwili rozpoczęcia depolaryzującego pulsu prądowego (Woodruff i in., 2009). Podobne różnice między właściwościami elektrofizjologicznymi obydwu typów komórek zaobserwowano w II/III warstwie mysiej kory przedlimbiczej (Taniguchi i in., 2013). W tym rejonie kory neurony kandelabrowe miały znacznie wyższy opór błony, ich APs trwały dłużej, a wyładowania cechowały się

większą adaptacją niż u komórek koszyzkowych. Neurony kandelabrowe miały z kolei niższy próg i częstotliwość wyładowań – zarówno inicjalną, jak i maksymalną – oraz cechowały się mniejszą amplitudą AHPs niż komórki koszyzkowe (Taniguchi i in., 2013). Doświadczenia na korze przedczołowej u szczurów wykazały, odwrotnie niż w badaniach na myszach, że neurony kandelabrowe wyładowują się z większą częstotliwością niż komórki koszyzkowe (Povysheva i in., 2013). Co ciekawe, neurony kandelabrowe mogą wykazywać działanie depolaryzujące na postsynaptyczne neurony piramidowe, w przypadku gdy potencjał błonowy komórek piramidowych jest równy potencjałowi spoczynkowemu (A. Woodruff i in., 2009). Jednocześnie w tych samych badaniach wykazano, że komórki koszyzkowe nie wykazują takiego depolaryzującego efektu (Woodruff i in., 2009). Dalsze badania *in vitro* pokazały, że depolaryzujące działanie neuronów kandelabrowych przejawia się głównie w stanie obniżonej aktywności mózgu (ang. *down state*) i może wpływać pozytywnie na prawdopodobieństwo generowania APs w komórce postsynaptycznej (Woodruff i in., 2011). Natomiast w stanie zwiększonej aktywności (ang. *up state*) neurony kandelabrowe demonstrowują negatywny wpływ na prawdopodobieństwo generowania APs w postsynaptycznej komórce piramidowej (Woodruff i in., 2011).

Oprócz komórek koszyzkowych i neuronów kandelabrowych w korze u gryzoni występują również inne Int-PV, które nie wpasowują się w wyżej wspomnianą, ogólnie przyjętą klasyfikację Int-PV. Są to: tzw. komórki *multipolar bursting*, komórki z międzywarstwowymi aksonami, komórki krzewiaste i komórki wydłużone horyzontalnie (Blatow i in., 2003; Bortone i in., 2014; Buchanan i in., 2012; X. Jiang i in., 2015).

1.1.3. Interneurony zawierające wazoaktywny polipeptyd jelitowy (Int-VIP)

Wazoaktywny polipeptyd jelitowy zbudowany jest z łańcucha 28 aminokwasów i tak jak SOM pełni w organizmie dwie funkcje: hormonu, neuroprzekaźnika/neuromodulatora. VIP zawdzięcza swoją nazwę wazodylatacyjnemu działaniu (rozkurczowi mięśni gładkich w ścianie naczyń krwionośnych i zwiększeniu ich średnicy) w jelitach, co skutkuje zwiększeniem przepływu krwi przez ten organ (Said i Mutt, 1970). VIP należy do nadrodziny hormonalnych peptydów posiadających między sobą zbliżoną budowę i obejmujących takie hormony jak glukagon, sekretyna czy somatoliberyna (Harmar i in., 2012). VIP występuje w większości organów ciała i posiada bardzo wiele rozmaitych funkcji fizjologicznych, co sprawia, że w szerokim

zakresie oddziałuje na cały organizm (Gozes i Brenneman, 1989). Peptyd ten występuje między innymi w ośrodkowym i obwodowym układzie nerwowym, przewodzie pokarmowym, sercu, płucach, tarczycy, nerkach, śledzionie oraz żeńskim i męskim układzie rozrodczym (Gozes i Brenneman, 1989; Said, 1986). W mózgu, VIP występuje najobficiej w korze, podwzgórzu (szczególnie obficie w jądrze nadskrzyżowaniowym), ciele migdałowatym, hipokampie, prążkowi i śródmózgowiu (Lorén i in., 1979; Said, 1986; Sims i in., 1980). VIP ma zdolność wiązania się z trzema GPCR działającymi głównie poprzez aktywację cykazy adenylowej: VPAC₁, VPAC₂ i PAC₁. Oba receptory VPAC posiadają wysokie powinowactwo do VIP, natomiast receptor PAC₁ ma bardzo małe powinowactwo do VIP, a jego głównym agonistą jest białko PACAP (ang. *pituitary adenylate cyclase activating peptide*) (Dickson i Finlayson, 2009; Harmar i in., 2012). Z powyższych względów fizjologiczne znaczenie w kontekście wiązania VIP wydają się mieć tylko receptory VPAC₁ i VPAC₂ (Dickson i Finlayson, 2009). Działając na astrocyty VIP pobudza glikogenolizę, co może mieć istotne znaczenie podczas przedłużającej się, wzmożonej aktywności komórek nerwowych i wzrostu zapotrzebowania na energię (Sorg i Magistretti, 1991). Poza tym VIP posiada neuroprotekcyjne działanie i jest niezbędny w prawidłowym rozwoju układu nerwowego (Brenneman, 2007; J. M. Hill i in., 2007). VIP jest również istotnym koordynatorem dziennych rytmów aktywności komórkowej w jądrze nadskrzyżowaniowym i w ten sposób odpowiada za behawioralne i fizjologiczne rytmy biologiczne (Aton i in., 2005). VIP dodatkowo jest neurotransmiterem/neuromodulatorem, który może oddziaływać pobudzająco, jak również hamująco na układ nerwowy – między innymi poprzez zwiększenie wydzielania GABA (Cunha-Reis i Caulino-Rocha, 2020; Gozes i Brenneman, 1989; Posłuszny, 2019). Powyżej wymienione funkcje VIP nie pokrywają całego spektrum działania tego peptydu w organizmie, a jedynie niewielką ich część (Gozes i Brenneman, 1989).

Interneurony zawierające VIP (ang. *vasoactive intestinal polypeptide containing interneurons*, Int-VIP) stanowią ok. 40% Int-5HT_{3aR}, co wynosi ok. 12-13% wszystkich korowych interneuronów GABAergicznym (S. Lee i in., 2010; Prönneke i in., 2015; Tremblay i in., 2016). W mysiej korze Int-VIP dominują w warstwie II/III, w warstwie IV występują w niewielkiej liczbie, natomiast pozostałe warstwy obejmują łącznie ok. 20% całej populacji tych komórek (Prönneke i in., 2015; Tremblay i in., 2016; X. Xu i in., 2010). Populacja Int-VIP w przeciwieństwie do populacji Int-SOM i Int-PV nie wywodzi się z komórek prekursorowych mających swój początek w MGE i PO, lecz z komórek pochodzących z części ogonowej wyniosłości zwojowej (ang. *caudal*

ganglionic eminence, CGE) – część brzuszna kresomózgowia położona z tyłu (ogonowo) za MGE i PO (Lim i in., 2018). Int-VIP pod względem anatomicznym dzielone są na klasę komórek dwubiegunowych i wielobiegunowych.

Dwubiegunowe Int-VIP mają najczęściej niewielkie, wrzecionowate ciała komórkowe z dwubiegunową morfologią (Bayraktar i in., 2000; Caputi i in., 2009; Prönneke i in., 2015). Komórki te mogą posiadać również pojedynczy „pęczek” dendrytów rozgałęziających się w jednym kierunku (ang. *single tufted*) – wtedy z jednego bieguna komórki wychodzi jeden dendryt, a z przeciwnego bieguna dwa lub więcej dendrytów (Bayraktar i in., 2000; Cauli i in., 2014). Komórki te mogą również wykazywać morfologię trójbiegunową (trzeci dendryt jest również zorientowany pionowo) i stożkowaty kształt ciała oraz czasami morfologię typu *bitufted* lub nieokreśloną morfologię (Bayraktar i in., 2000; Cauli i in., 2014; Kawaguchi i Kubota, 1996; Prönneke i in., 2015). Drzewka dendrytyczne tej klasy Int-VIP są zorientowane pionowo, z reguły wąskie, ograniczone do jednej kolumny i przechodzą przez wiele warstw kory, co sprawia, że komórki te mogą otrzymywać i integrować informację z wielu warstw kory wewnątrz jednej kolumny (Bayraktar i in., 2000; Prönneke i in., 2015). Dendryty dwubiegunowych Int-VIP warstwy II-IV wychodzące z bieguna skierowanego w kierunku powierzchni kory najczęściej rozgałęziają się dopiero docierając do warstwy I, gdzie tworzą duże, regularne, żyłakowate zgrubienia (Bayraktar i in., 2000). Do warstwy I docierają również dendryty dwubiegunowych Int-VIP warstwy V (Prönneke i in., 2015). Natomiast dendryty mające swój początek na spodnim biegunie komórki zwykle rozgałęziają się wcześniej, bliżej ciała komórkowego, prezentują bardziej zróżnicowaną morfologię i rzadsze, mniej regularne zgrubienia (Bayraktar i in., 2000). Aksony dwubiegunowych Int-VIP, tak jak dendryty tych komórek, najczęściej zachowują pionową orientację i w ok. 70% przypadków unerwiają warstwy znajdujące się poniżej ciała komórkowego. W pozostałych sytuacjach – najczęściej w warstwach III i IV – obserwuje się zazwyczaj początkowo wstępujące aksony, które następnie zwracają (Bayraktar i in., 2000). Powyżej opisane charakterystyki morfologiczne dendrytów i aksonów, zależne od lokalizacji ciała komórkowego interneuronu, determinują pionowy zakres ich rozpiętości. Dwubiegunowe Int-VIP, których ciała znajdują się w II/III warstwie charakteryzują się węższą rozpiętością pionową swoich dendrytów w porównaniu z interneuronami tej klasy zlokalizowanymi w głębszych warstwach (Prönneke i in., 2015). Odwrotna zasada dotyczy aksonów. Dwubiegunowe Int-VIP warstwy II/III posiadają znacznie bardziej rozległe, w większym stopniu

międzywarstwowe aksony niż Int-VIP tej klasy w warstwach niżej położonych (Prönneke i in., 2015).

Dwubiegunowe Int-VIP występują w warstwach II-VI, najliczniej notowane są w warstwie II/III, a najrzadziej w warstwie V/VI (Bayraktar i in., 2000; Prönneke i in., 2015; Tremblay i in., 2016).

Dwubiegunowe Int-VIP poza VIP i 5HT3aR mogą również zawierać kalretyninę, acetylotransferazę cholinową i czasami cholecystokininę (Bayraktar i in., 1997; Caputi i in., 2009; M. He i in., 2016; Kubota i Kawaguchi, 1997). Niedawne badania wskazują jednak, że połowa Int-VIP może nie zawierać 5HT3aR, a przynajmniej nie obserwuje się jego jonotropowego działania po podaniu serotoniny (Prönneke i in., 2020). Jest to interesujące, zwłaszcza w świetle wyników jakie otrzymano wcześniej na transgenicznej linii myszy posiadającej wyznakowane białkiem wzmocnionej zielonej fluorescencji (ang. *enhanced green fluorescent protein*, EGFP) Int-5HT3aR – wszystkie wówczas przebadane komórki posiadały aktywny 5HT3aR (S. Lee i in., 2010). Wydaje się więc, że na poziomie elektrofizjologicznym 5HT3aR nie jest rzetelnym markerem właściwej sobie klasy komórek, a przynajmniej nie we wszystkich liniach transgenicznych zwierząt. Dodatkowo badania immunocytochemiczne na mysiej I-rzędowej korze somatosensorycznej i szurzej korze czołowej wskazują, że interneurony dwubiegunowe nigdy nie zawierają SOM i PV (Caputi i in., 2009; Kubota i in., 2011; Prönneke i in., 2015). Bardzo zaskakujące są w powyższym kontekście wyniki, jakie otrzymano na mysiej I-rzędowej korze wzrokowej, wyraźnie dowodzące istnienia populacji komórek zawierających jednocześnie VIP, jak i SOM (Gonchar, 2008). Inne badania immunocytochemiczne na mysiej I-rzędowej korze wzrokowej i innych rejonach kory wydają się jednak temu przeczyć (X. Xu i in., 2010).

Wielobiegunowe Int-VIP posiadają najczęściej okrągłe lub wieloboczne ciało komórkowe, z którego różnych stron odchodzą dendryty – cztery lub więcej (Bayraktar i in., 2000; Cauli i in., 2014; Prönneke i in., 2015). Drzewka dendrytyczne tej klasy Int-VIP mogą być zorientowane horyzontalnie – najczęściej dotyczy to komórek warstwy I – lub rozchodzić się promieniście (Caputi i in., 2009; M. He i in., 2016; Prönneke i in., 2015). Drzewka aksonalne wielobiegunowych Int-VIP prezentują głównie organizację poziomą, chociaż niekiedy mogą być pionowe (Caputi i in., 2009; M. He i in., 2016; Prönneke i in., 2015).

Specyficzną podklasę wielobiegunowych Int-VIP stanowią małe komórki koszyczkowe, które eksprymują cholecystokininę – wydaje się, że powszechnie

stosowana transgeniczna linia myszy VIP-Cre (materiały i metody, rozdz. 3.1., str. 51.) nie obejmuje tych komórek (M. He i in., 2016). Małe komórki koszyczkowe mogą mieć budowę wielobiegunową, dwubiegunową lub typu *bitufted*, a ich aksony rozgałęziają się obficie unerwiając ciała i dendryty proksymalne lokalnych komórek, rzadko tworząc dodatkowe odgałęzienia poza warstwą i kolumną macierzystą (Kawaguchi i Kubota, 1996; Kubota i Kawaguchi, 1997; Markram i in., 2004; Y. Wang i in., 2002). Komórki warstwy II/III poza lokalnymi rozgałęzieniami dendrytycznymi często tworzą dodatkowe rozgałęzienia w warstwie I (M. He i in., 2016). Poza typowymi komórkami z lokalnymi drzewkami aksonalnymi zdarzają się również, na granicy I/II warstwy, komórki z aksonami rozgałęziającymi się w warstwie I (M. He i in., 2016).

Wielobiegunowe Int-VIP występują w warstwie I – głównie na granicy z warstwą II – w warstwie II/III i VI (M. He i in., 2016; Prönneke i in., 2015). Wielobiegunowe Int-VIP stanowią ok. 10% wszystkich Int-VIP w korze (Bayraktar i in., 2000; Prönneke i in., 2015).

Wielobiegunowe Int-VIP poza VIP i 5HT3aR mogą również zawierać cholecystokininę, kalretyninę i kalbindynę (M. He i in., 2016; Kubota i Kawaguchi, 1997; Y. Wang i in., 2002). Niewykluczone, że niewielka część wielobiegunowych Int-VIP może ekspresować acetylotransferazę cholinową, tak jak dwubiegunowe Int-VIP – nie jest to jednak bezwzględnie pewne. Powyższe przypuszczenie opiera się jedynie na występowaniu acetylotransferazy cholinowej w komórkach wielobiegunowych – przeważnie w warstwie V/VI – oraz niemalże stuprocentowym występowaniu VIP w komórkach z acetylotransferazą cholinową, a braku występowania w nich SOM i PV (Bayraktar i in., 1997; Gonchar, 2008; Peters i Harriman, 1988; von Engelhardt i in., 2007). Badania immunocytochemiczne na transgenicznym myszach VIP-Cre pokazują, że wielobiegunowe Int-VIP nigdy nie zawierają SOM ani PV (Prönneke i in., 2015). Małe komórki koszyczkowe mogą jednak ekspresować transkrypty *SOM*, jak i *PV* (Y. Wang i in., 2002).

Odnosnie własności elektrofizjologicznych, Int-VIP wykazują znacznie bardziej zróżnicowany wachlarz wzorów wyładowań niż Int-SOM i Int-PV. Dwubiegunowe i wielobiegunowe Int-VIP najczęściej prezentują wzór wyładowań z adaptacją lub nieregularny wzór wyładowań (wyniki, ryc. 4.24., str. 98.) (M. He i in., 2016; Prönneke i in., 2015; Schuman i in., 2019). Obie klasy Int-VIP mogą również posiadać wzór typu *burst*, czyli z początkową szybką serią APs, po której następuje bardzo szybka adaptacja i brak aktywności lub mogą prezentować wzór z początkową serią, po której mają miejsce

regularne wyładowania bez adaptacji (ang. *bursting non-adapting*) (Caputi i in., 2009; M. He i in., 2016; Prönneke i in., 2015). Wielobiegunowe Int-VIP prezentują także wzór z wysokim progiem wyładowań z początkową serią szybkich APs, po której mają miejsce regularne wyładowania bez adaptacji (ang. *high threshold bursting non-adapting*) – możliwe jest jednak, że jest to po prostu wzór, który przez innych określany jest jako *bursting non-adapting* (M. He i in., 2016; Prönneke i in., 2015). Wydaje się również, że małe komórki koszyczkowe mogą ujawniać dodatkowo regularny wzór wyładowań (Kawaguchi i Kubota, 1996; X. Xu i Callaway, 2009). Ponadto Int-VIP obydwu klas posiadające wzór typu *burst* mogą prezentować klasyczne wyładowania toniczne – przypominające częściowo wzór z akomodacją – jeśli potencjał błonowy tych komórek ulega znacznej depolaryzacji (Prönneke i in., 2020). Int-VIP charakteryzują się wysokim oporem wejściowym, znacznie wyższym niż jest to obserwowane u Int-SOM i Int-PV (Caputi i in., 2009; M. He i in., 2016; Prönneke i in., 2015; Schuman i in., 2019).

Int-5HT3aR, które nie zawierają VIP (Non-VIP) występują we wszystkich warstwach kory i stanowią ok. 60% wszystkich korowych Int-5HT3aR (S. Lee i in., 2010; Tremblay i in., 2016). Non-VIP obejmują swoim zakresem: neurony glejopodobne, duże komórki koszyczkowe zawierające cholecystokininę, komórki ze zstępującymi aksonami i tzw. *canopy cells* (Schuman i in., 2019; Tremblay i in., 2016).

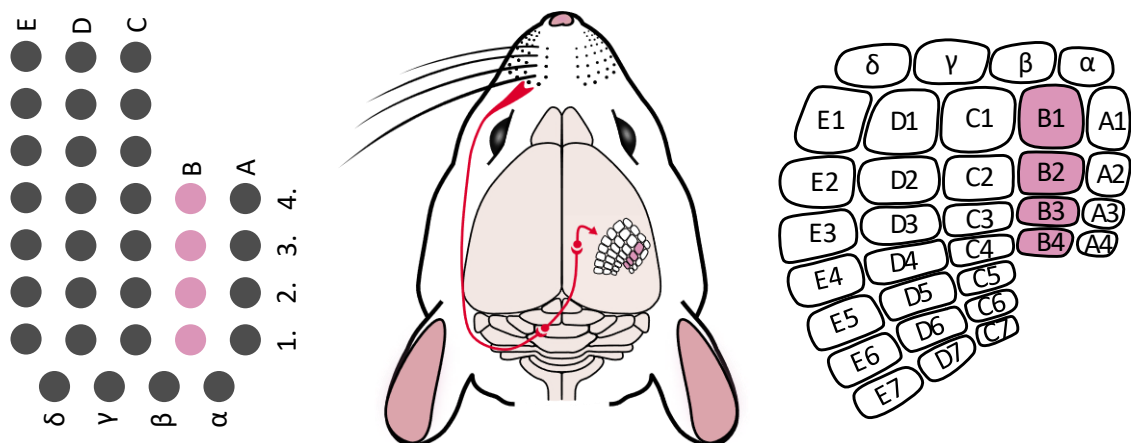
1.2. Kora baryłkowa

Myszy i ich ewolucyjni przodkowie od milionów lat przystosowywali się do życia nocnego, aby uniknąć polujących na nich drapieżników i zapewnić sobie przetrwanie. Ssaki te aby przetrwać w niegościnnym środowisku kopią norki i kompleksy podziemnych tuneli. Do poruszania się i orientacji w ubogim w światło środowisku, zwierzęta te w dużym stopniu polegają na zmyśle dotyku, a w szczególności na wibrysach, którymi aktywnie sondują otaczającą je przestrzeń. Po obu stronach mysiego pyszczka, wibrysy zorganizowane są w pięć równoległych rzędów opisanych – zaczynając od góry pyszczka – literami A-E, dodatkowo między rzędami znajdują się cztery długie wibrysy opisane literami greckimi (ryc. 1.1.)* (Van der Loos i Woolsey, 1973). Każda wibrysa ma swoje kontralateralne odzwierciedlenie w IV warstwie I-rzędowej kory somatosensorycznej w postaci cytoarchitektonicznej jednostki gęsto upakowanych komórek (Woolsey i Van der Loos, 1970). Każda z tych jednostek

* Wszystkie grafiki zostały zaprojektowane i wykonane przez autora pracy przy wykorzystaniu programu Inkscape 1.2. (Inkscape Team; <https://inkscape.org>) i PowerPoint (Microsoft, Stany Zjednoczone).

przypomina swoim przestrzennym kształtem baryłkę, przez co ta część I-rzędowej kory somatosensorycznej gryzoni wymiennie nazywana jest korą baryłkową lub polem baryłkowym (Woolsey i Van der Loos, 1970). Ściany baryłki tworzy większe zagęszczenie komórek otaczające środek o rzadszym skupieniu neuronów (Woolsey i Van der Loos, 1970). Między baryłkami znajdują się przestrzenie o bardzo niskiej gęstości komórkowej, oddzielające między sobą sąsiadujące baryłki, przestrzenie te nazywane są przegrodami (ang. *septa*) (Woolsey i Van der Loos, 1970). Baryłki w IV warstwie kory baryłkowej stanowią somatotopowe odzwierciedlenie układu wibrys znajdujących się na przeciwległej stronie pyszczka myszy (Woolsey i Van der Loos, 1970).

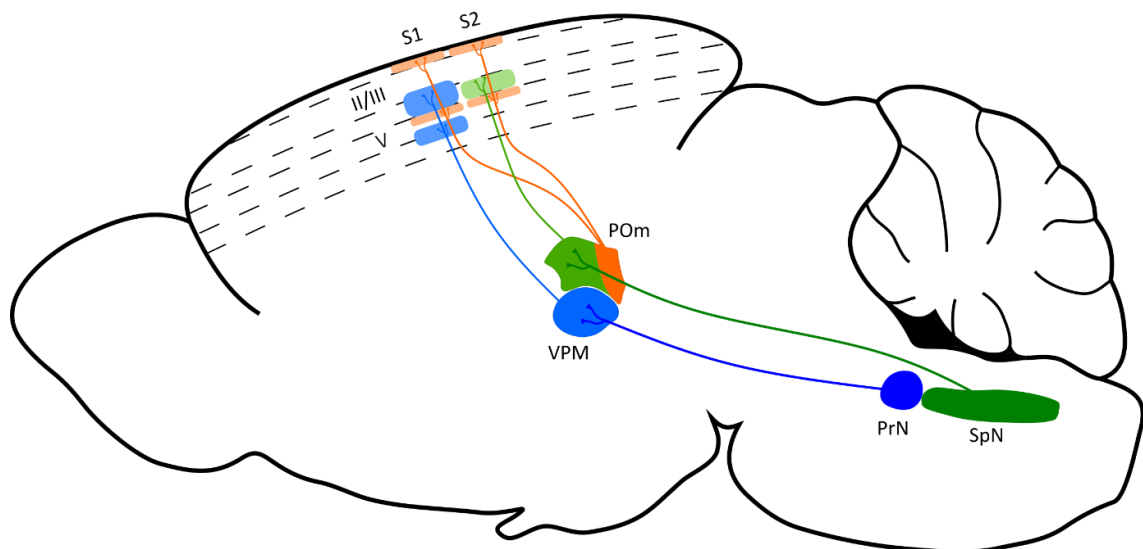
Każda wibrysa znajduje się w mieszku włosowym wywodzącym się z naskórka, który osadzony jest w zatoce żylniej pochodzącej ze skóry właściwej. Całość otoczona jest grubą kolagenową torebką oddzielającą zatokę od zewnętrznej, luźnej tkanki łącznej. Trzon wibrysy, mieszek, zatoka i torebka tworzą kompleks o bardzo złożonej budowie (ang. *follicle-sinus complex*) (Ebara i in., 2002; J.-N. Kim i in., 2011; Rice i in., 1986). W skład mieszka wchodzi m.in. odpowiedzialne za recepcję bodźców mechanicznych komórki Merkla, które unerwiane są przez neurony czuciowe (T. J. Park i in., 2003; Zimmerman i in., 2014). Pojedynczy neuron czuciowy unerwia tylko jeden mieszek włosowy i zbiera informację dotyczącą jednej wibrysy (Zucker i Welker, 1969). Odgięcie wibrysy powoduje mechaniczną aktywację kanałów kationowych w komórkach Merkla



Ryc. 1.1. Korowa reprezentacja wibrys i droga sygnału nerwowego z wibrysy do kory.

Lewa część ryciny przedstawia organizację wibrys na pyszczku myszy wraz z jej alfabetyczno-numerycznym oznakowaniem. **Środkowa** część prezentuje schematyczną drogę sygnału nerwowego z wibrysy do kory baryłkowej. Zaokrąglenia na początkach linii symbolizują połączenia synaptyczne w rdzeniu przedłużonym i we wzgórzu. Na schemacie pominięto pierwszą synapsę między komórką Merkla a neuronem czuciowym (dokładny opis w tekście). **Prawa** strona przedstawia korę baryłkową i alfabetyczno-numeryczne oznakowanie baryłek. Różowym kolorem zaznaczono rząd B wibrys i baryłek.

i przekazanie pobudzenia za pomocą synapsy chemicznej do neuronu czuciowego (Chang i in., 2016; Severson i in., 2017; S.-H. Woo i in., 2014). Zapoczątkowany w mieszku włosowym sygnał przekazywany jest przez neurony czuciowe nerwu podczodołowego (główne odgałęzienie nerwu szczękowego, który jest jednym z trzech odgałęzień nerwu trójdzielnego) do jądra nerwu trójdzielnego w rdzeniu przedłużonym (Dörfl, 1985; Zucker i Welker, 1969). W rdzeniu przedłużonym neurony nerwu trójdzielnego rozgałęziają się, tworząc dwa główne odgałęzienia, z których każde unerwia inną część jądra nerwu trójdzielnego (ryc. 1.2.) (Erzurumlu i in., 2010). Pierwsze z odgałęzień unerwia neurony głównego jądra czuciowego nerwu trójdzielnego (ang. *principal trigeminal nucleus*, PrN), to odgałęzienie da początek drodze lemniskalnej (ang. *lemniscal pathway*) (Erzurumlu i in., 2010). Natomiast drugie odgałęzienie unerwia neurony jądra rdzeniowego nerwu trójdzielnego (ang. *spinal nucleus*, SpN), które zapoczątkowuje drogę przylemniskalną (ang. *paralemniscal pathway*) (Erzurumlu i in., 2010). Na poziomie rdzenia przedłużonego, zarówno w jądrze czuciowym głównym, jak i jądrze rdzeniowym, obserwuje się anatomiczną reprezentację układu wibrysy, reprezentacja ta nazywana jest baryłeczkami (ang. *barrelettes*) (P. M. Ma, 1991; P. M. Ma i Woolsey, 1984). W dalszej kolejności sygnał przekazywany jest przez neurony jądra czuciowego głównego (wstęgą trójdzielną) do neuronów kontralateralnego jądra brzuszno-tylnoprzyśrodkowego we wzgórzu (ang. *ventral posteromedial nucleus*, VPM) – droga



Ryc. 1.2. Droga sygnału nerwowego z wibrysy do kory.

Niebieski kolor: droga lemniskalna, **zielony kolor:** droga paralemniskalna, **ciemnopomarańczowy kolor:** część jądra tylnoprzyśrodkowego wyższego rzędu, **PrN:** główne jądro czuciowe nerwu trójdzielnego, **SpN:** jądro rdzeniowe nerwu trójdzielnego, **VPM:** jądro brzuszno-tylnoprzyśrodkowe, **POm:** jądro tylnoprzyśrodkowe, **S1:** I-rzędowa kora somatosensoryczna, **S2:** II-rzędowa kora somatosensoryczna, **cyfry rzymskie:** warstwy kory. Szczegółowy opis w tekście.

lemniskalna (Chiaia i in., 1991; Erzurumlu i in., 1980; Killackey i Fleming, 1985). Z kolei neurony jądra rdzeniowego projektują do kontralateralnego jądra tylnoprzyśrodkowego wzgórze (ang. *posteromedial nucleus*, P_{Om}) – droga przylemniskalna (Chiaia i in., 1991; Erzurumlu i in., 1980). W VPM obserwuje się kolejną anatomiczną reprezentację układu wibrys, która nazywana jest bareloidami (ang. *barreloids*) (Land i in., 1995; Van der Loos, 1976). Następnie sygnał przekazywany aksonami komórek VPM dociera do kory baryłkowej do kolumn korowych związanych z baryłkami (Chmielowska i in., 1989; Wimmer i in., 2010). Aksony VPM unerwiają wnętrza „baryłkowych” kolumn – głównie warstwę IV, ale również spodnią część warstwy III i granicę warstwy V/VI (Chmielowska i in., 1989; Oberlaender i in., 2012; Wimmer i in., 2010).

Informacja przekazywana przez VPM jest w dużej mierze związana z informacją sensoryczną wynikającą z samodzielnie zainicjowanego ruchu – aktywne badanie otoczenia wibrysami i zbieranie informacji sensorycznej (El-Boustani i in., 2020; Moore i in., 2015; Urbain i in., 2015). Aksony neuronów P_{Om}, w przeciwieństwie do tych z VPM, unerwiają głównie przegrody między baryłkami, a nie wnętrza baryłek czy ich ściany (Chmielowska i in., 1989; Wimmer i in., 2010). Dodatkowo tylna część P_{Om} wyższego rzędu nie otrzymuje informacji z rdzenia, ale z kory i wysyła je do I warstwy i górnej części warstwy V kory baryłkowej i do II-rzędowej kory somatosensorycznej, a także do innych rejonów kory (El-Boustani i in., 2020; Ohno i in., 2012). Przypuszcza się, że P_{Om} wyższego rzędu może brać udział w regulacji przepływu korowo-wzgorzowo-korowych sygnałów i w ten sposób łączyć np. aktywność I- i II-rzędowej kory somatosensorycznej, a także może wspierać, w sposób zależny od kontekstu, integrację sensomotoryczną (El-Boustani i in., 2020). Informacja przesyłana przez P_{Om} jest związana w przeważającej mierze z informacją sensoryczną wynikłą z pasywnego kontaktu, jak i informacją związaną z podejmowaniem decyzji podczas zachowania ukierunkowanego na cel (El-Boustani i in., 2020; Masri i in., 2008).

Warstwa IV kory baryłkowej jest najobficiej unerwiana przez aksony wzgorzowo-korowe i to właśnie ta warstwa stanowi główne wejście dla informacji somatosensorycznej (Chmielowska i in., 1989; El-Boustani i in., 2020; Oberlaender i in., 2012; Wimmer i in., 2010). Neurony wzgorzowe unerwiają nie tylko komórki pobudzające IV warstwy kory baryłkowej, ale także Int-PV, Int-SOM i Int-VIP (ryc. 1.3.) (Beierlein i in., 2003; Cruikshank i in., 2010; Sermet i in., 2019). Dominującą część pobudzenia ze wzgórza otrzymują Int-PV, natomiast Int-SOM i Int-VIP są znacznie słabiej pobudzane przez aksony wzgorzowo-korowe (Beierlein i in., 2003; Cruikshank

bardzo rzadko tworzą połączenia chemiczne między sobą, ale stosunkowo często połączone są złączami szczelinowymi (Gibson i in., 1999; Scala i in., 2019). Int-PV IV warstwy kory często hamują lokalne komórki pobudzające, a połączenia te charakteryzują się dużą siłą (Beierlein i in., 2003; Gabernet i in., 2005; Inoue i Imoto, 2006; Koelbl i in., 2015). Int-PV hamują również Int-SOM i siebie nawzajem, obydwie typy połączeń występują stosunkowo często, ale charakteryzują się słabszą siłą niż w wypadku połączeń z komórkami pobudzającymi, mimo to nadal można je klasyfikować jako stosunkowo mocne (Y. Ma i in., 2012). Poza tym Int-PV łączą się również między sobą złączami szczelinowymi (Gibson i in., 1999). Ze względu na fakt, że Int-VIP są bardzo nieliczne w IV warstwie kory trudno jest badać połączenia jakie tworzą z innymi komórkami (Prönneke i in., 2015; Tremblay i in., 2016; X. Xu i in., 2010). Dotychczas nie opublikowano szczegółowych badań dotyczących wejść i wyjść synaptycznych Int-VIP IV warstwy kory somatosensorycznej gryzoni. Biorąc jednak pod uwagę fakt, że komórki te często tworzą odhamowujące obwody unerwiając Int-SOM i Int-PV, można się spodziewać, że również w IV warstwie ma to miejsce (Caputi i in., 2009; X. Jiang i in., 2015; Kullander i Topolnik, 2021; S. Lee i in., 2013; Pfeffer i in., 2013; Walker i in., 2016). Int-VIP w korze gryzoni mogą również hamować komórki pobudzające, niewykluczone, że odbywa się to także w IV warstwie kory baryłkowej (Caputi i in., 2009; Garcia-Junco-Clemente i in., 2017; Pfeffer i in., 2013). W korze gryzoni Int-VIP mogą być unerwiane zarówno przez komórki pobudzające, jak i przez Int-SOM, Int-PV i inne Int-VIP. Możliwe, że niektóre z powyższych motywów połączeń występują również w IV warstwie kory baryłkowej (Caputi i in., 2009; Karnani i in., 2016; Pfeffer i in., 2013). Dodatkowo poza synapsami chemicznymi Int-VIP mogą ze sobą tworzyć również złącza szczelinowe (Caputi i in., 2009; Karnani i in., 2016).

Prawidłowo rozwinięta i funkcjonująca kora baryłkowa jest warunkiem sprawnego funkcjonowania gryzoni w środowisku i w stadzie. Aktywne posługiwanie się i badanie otoczenia wibrysami (ang. *exploratory whisking*) u szczurów rozpoczyna się w drugim tygodniu po urodzeniu, jeszcze przed otwarciem oczu i kanałów słuchowych, i osiąga dojrzałą formę (częstotliwość, amplitudę, koordynację) przed końcem trzeciego tygodnia (M. Landers i Philip Zeigler, 2006; Welker, 1964). Gryzonie poruszają aktywnie wibrysami do przodu i do tyłu za pomocą kilku grup mięśni (Bellavance i in., 2017; Haidarliu, 2016). Aktywnemu poruszaniu wibrysami towarzyszy ruch nosa, głowy i głęboki, szybki oddech – wszystkie te zachowania podczas złożonej czynności wachania posiadają ustalony porządek i tworzą powtarzające się cykle do chwili zakończenia

eksploracji przez zwierzę (Welker, 1964). Doświadczenia na szczurzych noworodkach pokazują, że w oparciu o bodźce czuciowe z wibrys zwierzęta te mogą być warunkowane (M. S. Landers i Sullivan, 1999; Sullivan i in., 2003). Sugeruje to, że informacja sensoryczna z wibrys może być przydatna dla zwierzęcia już na bardzo wczesnym etapie rozwoju, a także dowodzi występowania plastyczności związanej z uczeniem już u 3-4 dniowych szczurów, jeszcze przed nabraniem funkcjonalnej dojrzałości przez korę baryłkową. Badania pokazują, że obcięcie wibrys szczurom zaraz po urodzeniu wywiera negatywny wpływ w dorosłym życiu. Szczury, którym przycinano wąsy przez pierwsze trzy dni po urodzeniu, w dorosłym wieku gorzej radziły sobie w testach na pokonanie szczeliny (ang. *gap-crossing test*), miały zmienione zachowanie eksploracyjne w teście otwartego pola i częściowo odmiennie zachowania społeczne związane z poznawaniem nowych osobników (L. Lee i in., 2009). Deprywacja sensoryczna poprzez przycinanie szczurom wibrys od urodzenia skutkuje również w dorosłości zmianami we wzorze posługiwania się wibrysami, co z kolei prowadzi do poważnych trudności w rozróżnianiu tekstur o zbliżonym żłobieniu (Carvell i Simons, 1996).

Kora baryłkowa dzięki swojej specyficznej budowie związanej z wiernym odwzorowaniem mieszków włosowych na pyszczku myszy stanowi dogodny model badań. Dodatkowo dzięki łatwej manipulacji peryferyjnym organem sensoryczny – przecinanie nerwu podoczodołowego, kauteryzacja mieszków włosowych, przycinanie, usuwanie wszystkich lub wybranych wibrys, mechaniczna manipulacja wibrysami – kora baryłkowa często wybierana jest jako model w badaniach funkcji układu nerwowego (C. C. H. Petersen, 2007; Staiger i Petersen, 2021). Powszechne wykorzystanie kory baryłkowej w badaniach neurobiologicznych zaowocowało obszerną wiedzą jaką obecnie posiadamy na temat jej morfologii, genetyki, proteomiki, rozwoju i funkcji (Butko i in., 2013; Erzurumlu i Gaspar, 2012; Feldmeyer i in., 2013). Zainteresowanie korą baryłkową i sposobem przetwarzania informacji czuciowej sprawiły również, że lepiej poznaliśmy budowę mieszków włosowych i związane z nią działanie mechanoreceptorów i przekaz informacji do nerwów czuciowych, dokładniej zrozumieliśmy sposób działania mięśni sterujących wibrysami i mechaniczne parametry wibrys, od których zależy kodowanie informacji czuciowej (Berg i Kleinfeld, 2003; Chang i in., 2016; T. J. Park i in., 2003; Quist i Hartmann, 2012; S.-H. Woo i in., 2014). Naukowy wysiłek związany z poznaniem kory baryłkowej zaowocował tym, że jest ona u gryzoni drugim najlepiej poznanym obszarem kory zaraz po I-rzędowej korze wzrokowej. Powyższe aspekty sprawiają, że model kory baryłkowej jest nie tylko wykorzystywany w badaniach dotyczących

kodowania i przetwarzania informacji czuciowej oraz w studiach nad uczeniem, ale także w badaniach dotyczących chorób neurodegeneracyjnych, badaniach nad plastycznością regeneracyjną po udarze, badaniach zaburzeń ze spektrum autyzmu czy badaniach dotyczących starzenia (Bekisz i in., 2010; Bero i in., 2011; Bureau i in., 2008; Jablonka i in., 2010; Liguz-Lecznar i in., 2015; Mazarakis i in., 2005; O'Connor i in., 2010). Model kory baryłkowej jest również z powodzeniem wykorzystywany w badaniach nad rytmem okołodobowym i snem, w badaniach nad wpływem wzbogacenia środowiska na korę, w badaniach nad ochronnym wpływem wysiłku fizycznego na pamięć, a także w badaniu uzależnień (Alwis i Rajan, 2013; K. Chen i in., 2017; Devonshire i in., 2007; Jasinska i in., 2015; G. Yang i Gan, 2012).

1.3. Plastyczność neuronalna

Plastyczność neuronalna to zdolność układu nerwowego do zmiany swojej budowy i funkcji w odpowiedzi na informacje docierające ze środowiska lub kompensacyjne zmiany układu nerwowego następujące po jego uszkodzeniu (von Bernhardi i in., 2017). Plastyczność jest nierozłączną częścią życia wyższych organizmów, a także prawdopodobnie większości wielokomórkowych zwierząt na ziemi. Plastyczność neuronalna występuje już u takich stosunkowo prostych form jak nicienie, rozgwiazdy, pijawki czy wywilżnie (Burrell i in., 2001; de Belle i Heisenberg, 1994; Landenberger, 1966; Y. Zhang i in., 2005). Plastyczność towarzyszy nam od urodzenia i jest związana z prawidłowym rozwojem i kształtowaniem się korowych, jak i podkorowych struktur mózgu (Erzurumlu i Gaspar, 2012). Podczas okresu okołoporodowego i w trakcie wczesnego rozwoju plastyczność związana jest z okresem krytycznym, w czasie którego brak właściwych bodźców ze środowiska skutkuje nieodwracalnymi zmianami różnych części kory (Gordon i Stryker, 1996; Van der Loos i Woolsey, 1973; L. I. Zhang i in., 2002). Można powiedzieć, że powyższa plastyczność, nazywana plastycznością rozwojową (ang. *developmental plasticity*), umożliwia dostosowanie rozwijającego się mózgu do zastałych warunków – związanych ze środowiskiem albo funkcjonowaniem peryferyjnych organów sensorycznych – i jako „plastyczność” powinna być w tym wypadku rozumiana jako zdolność układu nerwowego do tworzenia różnych wyjściowych wzorców połączeń, a nie jako zmiany w już ustalonych połączeniach synaptycznych, tak jak w przypadku plastyczności związanej z uczeniem. Zmiany w już istniejących połączeniach między neuronami są domeną plastyczności związanej

z uczeniem i plastyczności naprawczej zachodzącej po urazach ośrodkowego układu nerwowego.

Uczenie jest immanentną cechą wszystkich wyższych kręgowców, niezbędną do przetrwania i wydania potomstwa. Czym jest jednak uczenie? Słownik języka polskiego definiuje to słowo jako przyswajanie wiedzy, nabywanie umiejętności czy wyciąganie wniosków z doświadczeń. A więc jest to nie tylko wiedza o czymś, np. o lokalizacji wodopoju, ale także nabyta umiejętność, np. poruszania się czy wiedza wynikająca z doświadczenia i refleksji, np. szlifowana przez lata technika łowiecka lub umiejętność pisania grantów naukowych. Obecnie jest przyjęte, że wszystkie te formy uczenia opierają się na plastyczności neuronalnej, której nauka wyróżnia kilka form, a które to formy często współwystępują, pokrywają się i uzupełniają w działaniu (Citri i Malenka, 2008). Należy stwierdzić, że podział ten w dużym stopniu jest umowny i podyktowany w większej mierze zastosowaniami pragmatycznymi, niż faktycznym stanem związanym z całkowicie odmiennymi mechanizmami czy odrębnym czasowo-przestrzennym występowaniem, którego można byłoby się spodziewać po takiej kategoryzacji.

Obecnie uważa się, że mózg koduje informację poprzez czasowo-przestrzenne wzory aktywności pomiędzy zespołami neuronów (ang. *neuronal ensembles*) tworzących tzw. sieci neuronalne (ang. *neural circuits*) (Josselyn i Frankland, 2018). Większość modyfikacji w sieci, jej strukturze i aktywności, odbywa się dzięki powstawaniu nowych synaps, degradowaniu tych już istniejących lub zmianie ich siły. Reorganizacja tych połączeń zachodzi dzięki tzw. plastyczności synaptycznej, która obejmuje wszelkie zmiany fizjologiczne, molekularne i strukturalne synaps (Citri i Malenka, 2008). Ogólnie przyjęta, zaproponowana przez Donalda Hebba w 1949 r., koncepcja dotycząca tworzenia i wzmacniania synaptycznych połączeń między neuronami mówi o tym, że jeżeli akson jednej komórki wielokrotnie lub stale bierze udział w depolaryzacji i wyładowaniach drugiej komórki, dochodzi do pewnych procesów wzrostu lub metabolicznych zmian w jednej lub w obydwu komórkach, skutkujących wzrostem siły wspólnego połączenia (Hebb, 1949). Koncepcja ta została potwierdzona w wielu eksperymentach i obecnie nazywana jest Hebbowską plastycznością (ang. *Hebbian plasticity*) lub plastycznością zależną od czasu wyładowania (ang. *spike timing-dependent plasticity*) (Caporale i Dan, 2008; Feldman, 2012). Jest ona bezpośrednio związana ze zjawiskiem długotrwałego wzmocnienia (ang. *long-term potentiation*, LTP) zachodzącego w synapsach (Bliss i Gardner-Medwin, 1973; Bliss i Lomo, 1973). Mechanizm ten dotyczy wzrostu amplitudy polowych postsynaptycznych potencjałów pobudzających (ang. *field*

excitatory postsynaptic potentials, fEPSPs) lub amplitudy wyładowań rejestrowanych zewnątrzkomórkowo z populacji neuronów (ang. *population spike*) albo zwiększenia amplitudy postsynaptycznych potencjałów pobudzających (ang. *excitatory postsynaptic potentials*, EPSPs) bądź EPSCs rejestrowanych wewnątrzkomórkowo z pojedynczego neuronu (Bliss i Lømo, 1973; Katsuki i in., 1991; Malinow i Tsien, 1990; Markram i in., 1997). Klasycznie, LTP indukowane jest poprzez wysokoczęstotliwościową elektryczną stymulację grupy presynaptycznych komórek lub ich aksonów albo przy pomocy parowania niskoczęstotliwościowej stymulacji z dużą depolaryzacją komórki postsynaptycznej (Bliss i Lømo, 1973; Gustafsson i in., 1987). LTP indukowane jest również przez stymulację komórki presynaptycznej w krótkim odstępie czasowym przed komórką postsynaptyczną (Debanne i in., 1997; Markram i in., 1997). LTP może być także indukowane poprzez tzw. *uncaging* glutaminianu, optogenetycznie, chemicznie lub poprzez fotoaktywację genetycznie zmodyfikowanej kinazy białkowej zależnej od Ca^{2+} /kalmoduliny (ang. Ca^{2+} /**cal**modulin-dependent protein kinase **II**, CaMKII), która uczestniczy w przekazywaniu sygnału odpowiedzialnego za molekularne podstawy zajścia LTP (Bortolotto i Collingridge, 1992; Harvey i Svoboda, 2007; Rogan i in., 1997; Shibata i in., 2021). Również w żywych zwierzętach można wywołać LTP, stosując odpowiednie procedury warunkowania lub trening (Q. Li i in., 2017; Nabavi i in., 2014). Odwrotnością LTP jest długotrwałe osłabienie synaptyczne (ang. *long-term depression*, LTD), które indukowane jest najczęściej niskoczęstotliwościową elektryczną stymulacją grupy presynaptycznych komórek lub ich aksonów albo poprzez stymulację komórki postsynaptycznej przed komórką presynaptyczną (Debanne i in., 1994; Dunwiddie i Lynch, 1978; Lynch i in., 1977; Markram i in., 1997). W większości przypadków niezbędnym czynnikiem do zaistnienia LTP bądź LTD jest aktywacja receptora NMDA i wzrost stężenia Ca^{2+} w części postsynaptycznej (Artola i in., 1990; H.-K. Lee i in., 1998; Luscher i Malenka, 2012). Wielkość prądu generowanego przez receptor NMDA jest zależna od potencjału błony, co sprawia że receptor ten jest detektorem synchronicznej aktywności komórki presynaptycznej – uwolnienie glutaminianu – i postsynaptycznej – depolaryzacja błony (Mayer i in., 1984; Nowak i in., 1984). W dużym skrócie, aktywacja receptora NMDA prowadząca do LTP generuje duży wzrost stężenia Ca^{2+} skutkujący aktywacją CaMKII (Giese i in., 1998; Lisman i in., 2002). Aktywna CaMKII fosforyluje wiele białek w tym podjednostkę GluA1 receptora AMPA, zwiększając jego przewodnictwo (Benke i in., 1998; Derkach i in., 1999). Aktywacja CaMKII skutkuje również przemieszczeniem receptorów AMPA z wczesnych endosomów z powrotem do

błony postsynaptycznej, a także wprowadzeniem nowych receptorów do błony (Ehlers, 2000; Penn i in., 2017). Utrzymanie się istniejących i wprowadzenie nowych receptorów AMPA jest regulowane również przez inne białka i szlaki sygnałowe (Anggono i Huganir, 2012; Huganir i Nicoll, 2013). Uważa się, że LTD odwrotnie niż LTP indukowane jest niewielkim wzrostem stężenia Ca^{2+} w części postsynaptycznej i wiąże się z aktywacją fosfataz, defosforylacją między innymi podjednostki GluA1 oraz wycofaniem z błony postsynaptycznej receptorów AMPA (Beattie i in., 2000; Collingridge i in., 2010; Dudek i Bear, 1992; H.-K. Lee i in., 1998; Lisman, 1989; Mulkey i in., 1993, 1994). Najnowsze badania pokazują jednak, że do indukcji pewnych form LTD wymagana jest jedynie aktywacja receptora NMDA, bez konieczności napływu Ca^{2+} do wnętrza kolca dendrytycznego (Nabavi i in., 2013).

Zarówno LTP, jak i LTD towarzyszą zmiany morfologiczne synaps związane z modyfikacją ich kształtu, wielkości, wewnętrznej struktury cytoszkieletu czy zagęszczenia postsynaptycznego (ang. *postsynaptic density*). Zdolność do powyższych i innych przekształceń strukturalnych nosi miano plastyczności strukturalnej (ang. *structural plasticity*) (Holtmaat i Svoboda, 2009; Lamprecht i LeDoux, 2004). Plastyczność strukturalna bezpośrednio związana z LTP nazwana jest strukturalnym LTP (ang. *structural LTP*) (Y. Yang i Liu, 2022). Uważa się, że zwiększenie powierzchni kolców dendrytycznych umożliwia wprowadzenie większej liczby receptorów AMPA do błony postsynaptycznej. Badania pokazują, że wzrost objętości kolca dendrytycznego po indukcji LTP pozytywnie koreluje ze wzrostem prądu generowanego przez receptory AMPA w tym kolcu (Harvey i Svoboda, 2007; Matsuzaki i in., 2004). LTD, odwrotnie, związane jest ze zmniejszeniem wielkości kolca dendrytycznego (Stein i in., 2015; Q. Zhou i in., 2004). Plastyczność strukturalna dotyczy również tworzenia nowych kolców dendrytycznych oraz ich stabilizacji pod wpływem LTP lub zaniku już istniejących kolców pod wpływem LTD (T. C. Hill i Zito, 2013; Nägerl i in., 2004). Zmiany te zachodzą między innymi dzięki dynamicznej depolimeryzacji i polimeryzacji aktyny skutkujących restrukturyzacją cytoszkieletu (Bosch i in., 2014; Hlushchenko i in., 2016). Strukturalnemu LTP towarzyszy również transport wielu białek do kolca dendrytycznego, m.in. tych kontrolujących degradację, stabilność i sieciowanie aktyny oraz jej oddziaływanie z zagęszczeniem postsynaptycznym (Bosch i in., 2014). W późnym etapie strukturalnego LTP dochodzi również do syntezy nowych białek i zwiększenia zagęszczenia postsynaptycznego (Bosch i in., 2014).

Plastyczność Hebbowska poprzez swoje właściwości związane z pozytywnym sprzężeniem zwrotnym może jednak wpływać potencjalnie destabilizująco na zrównoważoną aktywność sieci neuronalnej. Zasada związana ze wzmocnieniem połączeń między dwoma neuronami, bazująca na ich skorelowanej aktywności, teoretycznie prowadziła by za każdym razem do zachwiania stabilności całego układu (Litwin-Kumar i Doiron, 2014). Jednorazowe wzmocnienie połączenia synaptycznego stwarza większe prawdopodobieństwo depolaryzacji komórki postsynaptycznej przez komórkę presynaptyczną, a w efekcie dalsze wzmocnienie danego połączenia. Skutkowałoby to również zwiększeniem całkowitego natężenia prądu wpływającego do komórki postsynaptycznej i wzrostem prawdopodobieństwa jej depolaryzacji przez inne, wcześniej nieskuteczne, wejścia synaptyczne. Zaproponowany model w końcowym efekcie prowadziłby nie tylko do destabilizacji całego układu, ale byłby wręcz zaprzeczeniem fundamentalnej koncepcji z jakiej się zrodził, gdyż skutkowałoby utratą funkcjonalnego znaczenia istotnych połączeń. Aby temu zapobiec musi istnieć inny mechanizm zaangażowany w stabilizację całego układu: plastyczność homeostatyczna (ang. *homeostatic plasticity*). Plastyczność ta poprzez mechanizm zwany skalowaniem synaptycznym (ang. *synaptic scaling*) reguluje proporcjonalnie siłę wszystkich synaps znajdujących się na komórce – zwiększając lub zmniejszając ich siłę – jednocześnie zachowując jednostkową wagę każdej synapsy względem wszystkich pozostałych (Keck i in., 2013; G. G. Turrigiano, 2008; G. G. Turrigiano i in., 1998; G. G. Turrigiano i Nelson, 1998). Molekularne podstawy skalowania synaptycznego nie są jeszcze dobrze poznane, ale dotychczasowe badania wskazują na dużą złożoność tego procesu. Powyższy mechanizm obejmuje wiele szlaków sygnałowych, m.in. związanych z kinazami białkowymi zależnymi od Ca^{2+} /kalmoduliny, neurotroficznym czynnikiem pochodzenia mózgowego (ang. *brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) czy czynnikiem martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor α* , TNF α) (Siddoway i in., 2014; G. Turrigiano, 2012). Interesujący wydaje się fakt, że w proces skalowania synaptycznego zaangażowane są astrocyty, które wydzielają TNF α (Stellwagen i Malenka, 2006). Wiadomo, że efekt skalowania synaps związany jest m.in. ze zmianą liczebności receptorów znajdujących się w części postsynaptycznej. Akumulacją receptorów AMPA w synapsach pobudzających i wycofaniem receptorów GABA $_A$ z synaps hamujących – w przypadku skalowania w górę – lub wycofaniem receptorów AMPA – w przypadku skalowania w dół (Kilman i in., 2002; Lissin i in., 1998; O'Brien i in., 1998; Wierenga i in., 2005). Plastyczność homeostatyczna może również prowadzić do wzrostu lub do

spadku liczby oraz wielkości kolców dendrytycznych, w zależności od tego czy neurony przez dłuższy czas miały obniżoną czy podwyższoną aktywność (Barnes i in., 2017; Kirov i Harris, 1999; McKinney i in., 1999). Badania pokazują również, że część presynaptyczna jest zaangażowana w plastyczość homeostatyczną poprzez m.in. zmiany w liczbie gotowych do uwolnienia pęcherzyków synaptycznych (ang. *readily-releasable pool*) czy kontrolę napływu wapnia i zmianę prawdopodobieństwa fuzji pęcherzyka z błoną presynaptyczną (Davis i Müller, 2015; Muller i in., 2012; Zhao i in., 2011). Ponadto plastyczość homeostatyczna oddziałuje na ogólną aktywność neuronów, kontrolując ich pobudliwość własną (wewnętrzną), poprzez regulację prądu związanego z jonami sodu, a więc wpływa na liczbę i/lub przepuszczalność kanałów sodowych zależnych od napięcia, a także wpływa na prąd potasowy blokowany przez tetraetyloaminę posiadający charakterystykę wolnego prądu prostowniczego (ang. *slow rectifier current*) (Desai i in., 1999; G. G. Turrigiano i Nelson, 2000; Wierenga i in., 2005).

LTP i LTD nie zawsze jednak zachodzą z taką samą łatwością i z taką samą siłą, ponieważ ma na to wpływ wcześniejsza aktywność synaptyczna. Powyższe zjawisko związane jest z metaplastyczością, czyli plastyczością wyższego rzędu, inaczej mówiąc „plastyczością synaptycznej plastyczości” (Abraham i Bear, 1996). Sama metaplastyczość nie inicjuje zauważalnych zmian na poziomie funkcjonalnym czy strukturalnym, ale determinuje zajście takich zmian i w ten sposób może być również postrzegana jako plastyczość homeostatyczna (Abraham, 2008; J. Li i in., 2019; Yee i in., 2017). Kilkukrotna aktywacja wejść synaptycznych komórek hipokampa w polu CA1, która sama nie indukuje widocznych zmian w przekaźnictwie synaptycznym, uniemożliwia indukcję LTP w tych synapsach przez kolejne kilkadziesiąt minut (Huang i in., 1992). Ponadto specyficzna, wysokoczęstotliwościowa stymulacja wejść komórek tego samego rejonu hipokampa, która sama nie powoduje zmian w przekaźnictwie synaptycznym, prowadzi do znaczącego wzrostu siły później indukowanego LTD (Holland i Wagner, 1998). Dodatkowo wcześniejsza wysokoczęstotliwościowa stymulacja wejść synaptycznych komórek hipokampa pola CA1, w zależności od później stosowanego protokołu indukcji LTP, prowadzi do osłabienia LTP lub wywołuje LTD (H. Wang i Wagner, 1999). Przykładem pewnej formy metaplastyczości u zwierząt, związanej z wcześniejszymi doświadczeniami, może być wzmocnienie LTP po wcześniejszej aktywności fizycznej lub przebywaniu we wzbogaconym środowisku (Duffy i in., 2001; van Praag i in., 1999). Można też zaobserwować osłabienie LTP

i wzmocnienie LTD po ekspozycji na silny stres, a także osłabienie LTP i LTD po spożywaniu kokainy (J. Kim i in., 1996; Moussawi i in., 2009). W przypadku badań metaplastyczności wywołanej doświadczeniem u zwierząt należy być jednak ostrożnym w wyciąganiu wniosków, gdyż nie wiemy, czy obserwowana metaplastyczna indukcja rzeczywiście dotyczy badanych komórek, czy związana jest z wpływem sieci w której te komórki się znajdują lub oddziaływaniem innych obszarów mózgu (Abraham i Richter-Levin, 2018). Molekularne mechanizmy metaplastyczności opierają się na podobnych mechanizmach co LTP/LTD, m.in. na aktywacji receptorów NMDA, zmianach stężenia Ca^{2+} w komórce, aktywacji CaMKII, fosfatazy białkowej 1 i 2A, receptorów metabotropowych dla glutaminianu i syntezie nowych białek (Huang i in., 1992; Mellentin i in., 2007; Raymond i in., 2000; Rush i in., 2002; N. H. Woo i Nguyen, 2002; L. Zhang, 2005).

Oprócz powyższych form plastyczności wyróżnia się również plastyczność związaną z pobudliwością własną (wewnętrzną) neuronów (ang. *intrinsic excitability*), która to plastyczność nazywana jest plastycznością własną (ang. *intrinsic plasticity*) (W. Zhang i Linden, 2003). Pobudliwość własna neuronu związana jest z jego zdolnością do generowania potencjałów czynnościowych w odpowiedzi na przychodzące pobudzenie (Reuveni i Barkai, 2018). Własność ta jest więc związana z przekształceniem przychodzącego sygnału na wzór wyładowań charakterystyczny dla każdej komórki. Wiąże się to z dostosowaniem wielu parametrów APs, m.in. ich częstotliwości i czasu trwania czy amplitudy i kinetyki AHPs. Sposób wyładowywania się neuronu wynika z rodzaju i proporcji różnego typu prądów zależnych od potencjału i wapnia (kanały zależne od wapnia) determinujących aktywne własności błony – generowanie APs – a także od stałych prądów określających pasywne własności błony: opór wejściowy i potencjał spoczynkowy (Reuveni i Barkai, 2018). Zmiany w kompozycji i liczbie kanałów jonowych determinujące wewnętrzne własności prądowe komórki, następujące w wyniku aktywności sieci neuronalnej, stanowią podstawę plastyczności własnej (Debanne i in., 2019; Reuveni i Barkai, 2018). Plastyczność ta zachodzi między innymi w efekcie zmian ogólnej aktywności sieci neuronalnej, więc może być również rozpatrywana czasami jako część plastyczności homeostatycznej (Desai i in., 1999; G. Turrigiano, 2011). Do zmian w pobudliwości własnej u zwierząt dochodzi m.in. w przypadku deprywacji sensorycznej, jako efekt uzależnienia i formowania się nałogu czy po uczeniu (B. T. Chen i in., 2013; Maffei i Turrigiano, 2008; McKay i in., 2013; Salling i in., 2018; Sehgal i in., 2014; Q.-Q. Sun, 2009). Zmiany pobudliwości własnej

często współwystępują z LTP lub LTD i same w zależności od kierunku zmian nazywane są czasami długotrwałym wzmocnieniem pobudliwości własnej (ang. *long term potentiation of intrinsic excitability*, LTP-IE) lub długotrwałym osłabieniem pobudliwości własnej (ang. *long term depression of intrinsic excitability*, LTD-IE) (Armano i in., 2000; Brager i Johnston, 2007; Frick i in., 2004; Jung i Hoffman, 2009; Shim i in., 2017; J. Xu i in., 2005). Prawdopodobnie same zmiany w pobudliwości własnej mogą działać synergistycznie z LTP i LTD oraz pozytywnie wpływać na ich indukcję, ale część badań wskazuje, że nie jest to stałą regułą (Belmeguenai i in., 2010; Brager i Johnston, 2007; Malik i Chattarji, 2012; Shim i in., 2017). Najnowsze odkrycia pokazują, że pobudliwość własna może działać z LTD synergistycznie (maleć) lub działać homeostatycznie (rosnąć) w zależności od siły zaindukowanego LTD (Gasselin i in., 2017). Współwystępowanie obydwu powyższych plastyczności tłumaczone może być podobnymi mechanizmami indukcji. LTP-IE/LTD-IE tak jak klasyczne LTP/LTD opierają się m.in. na aktywacji receptorów NMDA, wpływie Ca^{2+} do komórki, aktywacji CaMKII i syntezie nowych białek (Armano i in., 2000; Frick i in., 2004; Shim i in., 2017; J. Xu i in., 2005).

1.4. Udział korowych interneuronów GABAergicznym w plastyczność wywołanej uczeniem

Plastyczność związana z uczeniem jest jednym z najszerzej eksplorowanych zagadnień w neurobiologii. Ten cieszący się nieustającym zainteresowaniem temat obejmował w przeszłości głównie badania dotyczące neuronów pobudzających. Dopiero od niedawna obserwuje się wzrost zainteresowania systemem GABAergicznym i jego rolę w plastyczności wywołanej uczeniem. Ostatnie dwie dekady przyniosły ogromny postęp wiedzy dotyczący roli systemu GABAergicznego w plastyczności związanej z uczeniem – także ukazując podział funkcji pomiędzy poszczególnymi klasami komórek hamujących w powyższej plastyczności (Cunha-Reis i Caulino-Rocha, 2020; Guet-McCreight i in., 2020; Kullmann i in., 2012; Liguz-Leczna i in., 2016; Rupert i Shea, 2022; Urban-Ciecko i Barth, 2016).

Badania na korze motorycznej myszy uczonych naciskania dźwigni w odpowiedzi na bodziec dźwiękowy w celu otrzymania nagrody wykazały udział Int-SOM w reorganizacji kolców dendrytycznych dystalnych dendrytów komórek pobudzających II/III warstwy (S. X. Chen i in., 2015). Optogenetyczne zachwianie aktywności Int-SOM w powyższym treningu prowadziło do zaburzenia reorganizacji kolców komórek

pobudzających, a ponadto upośledzało uczenie się zwierzęcia. Nie miała natomiast takiego wpływu ani manipulacja aktywnością Int-PV w trakcie uczenia, ani manipulacja Int-SOM u myszy, które już nauczyły się nowej umiejętności motorycznej (S. X. Chen i in., 2015).

W jądrze podstawnym bocznym ciała migdałowatego, w trakcie prezentacji bodźca warunkowanego, Int-PV odhamowują lokalne komórki pobudzające poprzez hamowanie Int-SOM (Wolff i in., 2014). Aktywność tego odhamowującego obwodu jest niezbędna w asocjacji bodźca warunkowego (dźwięku) z bezwarunkowym (szokiem elektrycznym) i wykształceniu odpowiedniego zachowania w postaci zamarcia zwierzęcia w bezruchu w odpowiedzi na bodziec warunkowany (Wolff i in., 2014). Późniejsze eksperymenty pokazały, że również Int-VIP jądra podstawnego bocznego ciała migdałowatego zaangażowane są w uczenie asocjacyjne poprzez hamowanie zarówno Int-SOM, jak i Int-PV, co prowadzi do zwiększenia aktywności części lokalnych neuronów pobudzających (Krabbe i in., 2019). Optogenetyczne zablokowanie aktywności Int-VIP w trakcie podawania bodźca bezwarunkowego (elektryczna stymulacja) pogarszało jego asocjację z bodźcem warunkowym (dźwiękiem). Dodatkowo badania te pokazały, że aktywność Int-VIP spada wraz z treningiem, kiedy zwierzę spodziewa się elektrycznej stymulacji po bodźcu dźwiękowym (Krabbe i in., 2019). Interesujący jest fakt, że zastosowanie niespodziewanej elektrycznej stymulacji lub stymulacji o podwyższonej sile prowadziły do zwiększonej odpowiedzi Int-VIP, wskazując, że aktywność tych komórek modulowana jest przez wynik jakiego spodziewa się zwierzę (Krabbe i in., 2019).

Badania związane z uczeniem asocjacyjnym z wykorzystaniem kory przedlimbiczej pokazały odwrotną aranżację odhamowującego obwodu niż ten opisany w jądrze podstawnym bocznym ciała migdałowatego (Cummings i Clem, 2020). Doświadczenia te pokazały, że w uczenie asocjacyjne zaangażowane są również Int-SOM kory przedlimbiczej hamujące lokalne Int-PV i otrzymujące pobudzenie z jądra podstawnego bocznego ciała migdałowatego. Optogenetyczne zahamowanie Int-SOM pogarszało uczenie asocjacyjne, a także upośledzało już wyuczone zachowanie, wskazując na to, że Int-SOM nie tylko biorą udział w przyswajaniu informacji, ale także ją kodują i są niezbędne w ekspresji już wyuczonego zachowania (Cummings i Clem, 2020).

Badania I-rzędowej kory słuchowej myszy pokazały, że Int-PV i Int-5HT3aR tworzą odhamowujący obwód zaangażowany w warunkowanie strachu (Letzkus i in.,

2011). W trakcie szoku elektrycznego w łąpy Int-5HT3aR warstwy I są pobudzone przez wejścia cholinergiczne pochodzące z części podstawnej przodomózgowia i następnie te interneurony hamują Int-PV II/III warstwy. Zahamowanie Int-PV jest niezbędne do aktywacji lokalnych komórek piramidowych i utworzenia asocjacji między warunkowanym bodźcem dźwiękowym a elektrycznym szokiem w łąpy (Letzkus i in., 2011). Również badania I-rzędowej kory wzrokowej myszy pokazały dużą złożoność działania hamujących obwodów neuronalnych zaangażowanych w uczenie (Khan i in., 2018). Uczenie oparte na rozróżnianiu dwóch bodźców wzrokowych zwiększało selektywność Int-PV i Int-SOM, ale nie Int-VIP na jeden z prezentowanych bodźców. Dodatkowo selektywność Int-PV w dużej mierze była zależna od aktywności lokalnej sieci neuronalnej, podczas gdy selektywność Int-SOM przedstawiała znacznie mniejszą od niej zależność, sugerując tym samym odmienne funkcje obydwu klas komórek (Khan i in., 2018).

Również interneurony prążkowiec zaangażowane są w prawidłowe uczenie u myszy. Int-PV prążkowiec hamują neurony główne (ang. *principal cells*) prążkowiec (komórki te są GABAergiczne i wysyłają projekcje do innych struktur) i interneurony zawierające neuropeptyd Y (w tym neurony glejopodobne), które również hamują neurony główne (K. Lee i in., 2017). Właściwy poziom aktywności Int-PV w tym rejonie mózgu jest niezbędny w regulacji pobudzenia neuronów głównych prążkowiec i we wczesnym etapie uczenia asocjacyjnego z nagrodą. Natomiast w kolejnych dniach nauki, kiedy zwierzę nabiera doświadczenia, wpływ Int-PV na uczenie zmniejsza się (K. Lee i in., 2017).

Z kolei Int-PV w hipokampie odpowiedzialne są za konsolidację pamięci kontekstowej strachu (ang. *contextual fear memory*) poprzez zwiększenie synchronicznej aktywności sieci oraz stabilizację wzorów aktywności między neuronami (poziom skorelowanej aktywności dwóch neuronów w czasie) (Ognjanovski i in., 2017). Zwierzęta, którym czasowo zablokowano aktywność Int-PV w polu CA1 hipokampa, znacznie gorzej się uczyły niż zwierzęta kontrolne i nie kojarzyły szoku elektrycznego w łąpy (bodźca) z klatką w której go otrzymały (kontekstem) (Ognjanovski i in., 2017). Jest to w zgodzie z wcześniejszymi wynikami innych badań, które pokazały, że Int-PV w hipokampie podlegają czasowym, plastycznym zmianom indukowanym przez kontekstowe warunkowanie strachu lub uczenie przestrzenne (Donato i in., 2013). W przypadku uczenia przestrzennego aktywność Int-PV reguluje gęstość synaps jakie na nich tworzą Int-VIP. Zmiany te są niezbędne w trakcie uczenia i formowania się pamięci przestrzennej w labiryncie wodnym Morrisa. Myszy, którym chemogenetycznie

aktywowano Int-PV lub hamowano Int-VIP poza sesją treningową, znacznie gorzej radziły sobie w uczeniu przestrzennym od myszy kontrolnych (Donato i in., 2013). Interesujące jest również, że podobne, okresowe zmiany w gęstości synaps między Int-PV a Int-VIP, tyle że w I-rzędowej korze motorycznej, towarzyszyły uczeniu motorycznemu (Donato i in., 2013). Wykazano również, że Int-PV hipokampa wspierają uczenie asocjacyjne u myszy poprzez wzmocnienie oscylacji w paśmie gamma w czasie pomiędzy początkiem bodźca warunkowego a początkiem bodźca bezwarunkowego (R. Li i in., 2022). Myszy, którym optogenetycznie hamowano Int-PV w trakcie prezentacji bodźca warunkowego lub w czasie pomiędzy końcem tego bodźca a początkiem bodźca bezwarunkowego, gorzej radziły sobie z uczeniem niż myszy kontrolne. Natomiast optogenetyczna stymulacja Int-PV o częstotliwości 40 Hz – czyli w paśmie gamma – między początkiem bodźca warunkowego a początkiem podawania bodźca bezwarunkowego w pierwszych dwóch dniach treningu prowadziła do lepszych niż standardowe wyników uczenia osiągniętych przez zwierzę w 3-5 dniu nauki (R. Li i in., 2022). Inne badania pokazały również, że Int-VIP w hipokampie myszy uczestniczą w uczeniu przestrzennym zorientowanym na cel. Modulowana przez nagrodę aktywność Int-VIP była niezbędna w zwiększeniu frakcji komórek miejsca (ang. *place cells*) związanych z przestrzenią wokół nagrody, a także konieczna w prawidłowym uczeniu się zwierzęcia (Turi i in., 2019). Ponadto optogenetyczne wzmocnienie aktywności Int-VIP w trakcie zadania poprawiało standardowe wyniki osiągnięte przez zwierzęta (Turi i in., 2019).

1.5. Plastyczność układu GABAergicznego wywołana warunkowaniem klasycznym – charakterystyka modelu badawczego

Interneurony GABAergiczne, oprócz swojej roli w uczeniu się, same ulegają zmianom plastycznym w wyniku procedur uczenia. Przy czym mechanizmy plastyczności poszczególnych klas interneuronów nadal są intensywnie badane. W doświadczeniach zaprezentowanych w niniejszej pracy doktorskiej wykorzystano protokół warunkowania myszy, w którym łączono w czasie odgięcie rzędu B wibrys po lewej stronie pyszczka myszy z szokiem elektrycznym w ogon zwierzęcia. Protokół ten został po raz pierwszy zastosowany w 1996 r. (Siucinska i Kossut, 1996). Wykazano wtedy, stosując obrazowanie za pomocą radioaktywnie wyznakowanej 2-deoksyglukozy, powiększenie funkcjonalnych reprezentacji wibrys stymulowanych w czasie procedury warunkowania. Powyższych zmian nie zaobserwowano u kontrolnych

zwierząt, które były poddane pseudowarunkowaniu lub otrzymały wyłącznie bodziec warunkowy (Siucinska i Kossut, 1996). Kolejne eksperymenty z wykorzystaniem tego modelu ujawniły wiele zmian na poziomie molekularnym, morfologicznym i elektrofizjologicznym, które wskazywały, że warunkowanie prowadzi do zwiększenia hamowania GABAergicznego (Cybulska-Klosowicz i in., 2013; Dobrzanski i in., 2022; Gierdalski i in., 2001; Jasinska i in., 2010, 2013, 2016; Lech i in., 2001; Posluszny i in., 2015; Siucinska i in., 1999; Tokarski i in., 2007; Urban-Ciecko i in., 2010). Zaobserwowano około dwukrotne zwiększenie gęstości komórek pozytywnych dla GABA we wnętrzach baryłek, które odpowiadały stymulowanym wibrysom (Siucinska i in., 1999). Późniejsze eksperymenty wykazały także około 50% wzrost gęstości komórek pozytywnych na dekarboksylazę glutaminianową 67 – enzym przekształcający glutaminian w GABA – we wnętrzach baryłek reprezentujących wibrysy, które brały udział w warunkowaniu (Gierdalski i in., 2001). Dalsze doświadczenia immunocytochemiczne wykazały, że wzrost gęstości komórek pozytywnych na dekarboksylazę glutaminianową 67 dotyczy Int-SOM, nie jest natomiast związany z Int-PV ani interneuronami zawierającymi kalretyninę lub kalbindynę (Cybulska-Klosowicz i in., 2013; Siucinska i Kossut, 2006). Badania wykorzystujące hybrydyzację *in situ* wykazały ponadto wzrost ekspresji mRNA podjednostki $\alpha 1$ receptora GABA_A w baryłkach odpowiadających manipulowanym wibrysom (Lech i in., 2001). Z kolei rejestracje elektrofizjologiczne ujawniły wzrost częstotliwości postsynaptycznych prądów hamujących (ang. *inhibitory postsynaptic currents*, IPSCs) w neuronach pobudzających zlokalizowanych w „warunkowanych” baryłkach (Tokarski i in., 2007). Badania elektrofizjologiczne nie tylko potwierdziły zmiany funkcjonalne zaobserwowane w eksperymentach z wykorzystaniem 2-deoksy-glukozy, ale ponadto pokazały, że w zmiany funkcjonalne zaangażowany jest system GABAergiczny. Kolejne eksperymenty wykazały, że warunkowanie myszy w odmienny sposób wpływa na wielkość tonicznego prądu hamującego rejestrowanego z różnych typów komórek IV warstwy kory baryłkowej (Urban-Ciecko i in., 2010). Po warunkowaniu zaobserwowano wzrost tonicznego (pozasynaptycznego) prądu hamującego w komórkach prezentujących regularny wzór wyładowań (przypuszczalne komórki pobudzające) i spadek tego typu hamowania w komórkach z wyładowaniami typu *fast-spiking* (domniemane Int-PV). Natomiast nie stwierdzono takich zmian w komórkach z wyładowaniami typu *low-threshold spiking* (przypuszczalne Int-SOM) (Urban-Ciecko i in., 2010). Ponadto badania na poziomie strukturalnym z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej

wykazały wzrost o 74% gęstości hamujących synaps zlokalizowanych na dendrytach neuronów „warunkowanych” baryłek, zmiana ta związana była z prawie trzykrotnym wzrostem liczby podwójnych synaps – jedna synapsa pobudzająca i jedna hamująca zlokalizowane na tym samym kolcu (Jasinska i in., 2010). Późniejsze badania wykazały również wielokrotnie zwiększoną liczbę polirybosomów w kolcach z podwójnymi synapsami i trzonach dendrytów przy synapsach hamujących tworzonych przez neurony zlokalizowane w „warunkowanych” baryłkach (Jasinska i in., 2013). W tych baryłkach odkryto również wzrost powierzchni zagęszczenia postsynaptycznego synaps hamujących zlokalizowanych na kolcach z podwójnymi synapsami (Jasinska i in., 2016). Dalsze badania ustaliły, że do wzrostu funkcjonalnych reprezentacji manipulowanych wibrys, następującego po warunkowaniu, niezbędna jest aktywność systemu GABAergicznego (Posluszny i in., 2015). Ostatnie badania z użyciem chemogenetycznej manipulacji aktywnością interneuronów ujawniły, że za zwiększenie funkcjonalnej reprezentacji manipulowanych wibrys oraz za prawidłowe wykształcenie się odpowiedzi behawioralnej myszy odpowiedzialne są Int-SOM w IV warstwie kory baryłkowej (Dobrzanski i in., 2022).

2. Cele pracy

Celem badań prezentowanych w niniejszej rozprawie było określenie mechanizmów plastyczności zachodzącej w wyniku uczenia się myszy w obrębie korowych interneuronów GABAergicznym. Podjęto próbę odpowiedzi na pytanie, czy uczenie zmienia funkcjonowanie wybranych trzech klas korowych interneuronów GABAergicznym: Int-SOM, Int-PV oraz Int-VIP. W trakcie eksperymentów zastosowano prostą formę uczenia u myszy opartą o awersyjne warunkowanie klasyczne lub pseudowarunkowanie z wykorzystaniem pierwszorzędowej kory somatosensorycznej jako miejsca indukcji potencjalnych zmian plastycznych (Siucinska i Kossut, 1996). Używając technik elektrofizjologicznych i optogenetycznych badano interneurony oraz neurony pobudzające IV warstwy pierwszorzędowej kory somatosensorycznej w skrawkach mózgu zwierząt warunkowanych, pseudowarunkowanych i naiwnych, aby odpowiedzieć na poniższe pytania:

1. Czy uczenie prowadzi do zmian plastycznych pobudliwości własnej (wewnętrznej) wybranych klas interneuronów GABAergicznym?
2. Czy uczenie powoduje zmiany plastyczne w obrębie wejść i wyjść synaptycznych wybranych klas interneuronów?
 - a) Czy uczenie długotrwale zmienia przewodność pobudzającą dochodzącą do interneuronów?
 - b) Czy uczenie długotrwale zmienia hamowanie neuronów pobudzających przez poszczególne typy interneuronów?

3. Materiały i metody

3.1. Zwierzęta

W badaniach wykorzystano myszy transgeniczne zaprojektowane w oparciu o system Cre-LoxP (H. Kim i in., 2018). System ten wykorzystuje rekombinazę Cre (ang. *causes recombination/cyclization recombinase*) pochodzącą z bakteriofaga P1, rozpoznającą specyficzną sekwencję DNA – *loxP* (ang. *locus of crossover [x] in P1 bacteriophage*). Rekombinaza Cre przeprowadza ukierunkowaną delecję fragmentu DNA położonego pomiędzy dwiema sekwencjami *loxP* (Kühn i Torres, 2002).

W doświadczeniach wykorzystano potomstwo zwierząt homozygotycznych linii sprowadzonych z The Jackson Laboratory (Stany Zjednoczone): SOM-Cre (nr linii: 013044), PV-Cre (012358), VIP-Cre (010908), Ai14 (007908) oraz Ai32 (024109). Pierwsze trzy linie cechują się ekspresją rekombinazy Cre, odpowiednio w komórkach zawierających SOM, PV i VIP. Z kolei myszy linii Ai14 posiadają w swoim genomie gen reporterowy zaprojektowany tak, że sekwencjami *loxP* flankuje z obu stron kaskadę STOP, która zapobiega ekspresji czerwonego białka fluorescencyjnego tdTomato (ang. *tandem dimer Tomato*). Po skrzyżowaniu osobników tej linii z myszami ekspresyjnymi rekombinazę Cre dochodzi do wycięcia kaskady STOP przez rekombinazę, co umożliwia transkrypcję i translację fragmentu kodującego czerwony marker fluorescencyjny tdTomato. Linia myszy Ai32 posiada gen skonstruowany w oparciu o tę samą zasadę co Ai14. Jednak po skrzyżowaniu myszy linii Ai32 z osobnikami ekspresyjnymi w swoich komórkach rekombinazę Cre dochodzi do ekspresji opsyny, udoskonalonej ChR2(H134R) (ang. *channel rhodopsin 2*) połączonej z białkiem wzmocnionej żółtej fluorescencji (ang. *enhanced yellow fluorescent protein*, EYFP). Powyższe linie były utrzymywane w stanie homozygotycznym, a do eksperymentów brano heterozygotyczne potomstwo (F1) powstałe po skrzyżowaniu linii Cre z linią Ai: SOM-Cre x Ai14, PV-Cre x Ai14, VIP-Cre x Ai14, SOM-Cre x Ai32, PV-Cre x Ai32 lub VIP-Cre x Ai32.

Myszy były utrzymywane w Zwierzętarni Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN w Warszawie. Zwierzęta przeznaczone do doświadczeń były oddzielane od matek 21 dnia po urodzeniu. Samce i samice bytowały w oddzielnych klatkach, w grupach po 2-6 osobników. Klatki miały wymiary (cm): 25 (długość) x 20 (szerokość) x 14 (wysokość). Zwierzęta z nieograniczonym dostępem do wody i karmy, przetrzymywane były w temperaturze 20-23°C oraz wilgotności względnej powietrza wynoszącej 40-50%. Doba w jakiej żyły zwierzęta składała się z naprzemiennych 12 godzinnych cykli fazy jasnej i ciemnej. Klatki zawierały ściółkę z drewna topoli,

wałeczki z waty celulozowej do budowy gniazda oraz różne rodzaje wzbogacenia: bloczki, taśmy i rolki z drewna. Chów myszy i wszystkie przeprowadzane na tych zwierzętach eksperymenty były wykonywane zgodnie z dyrektywą Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych.

3.2. Procedury wykonywane na zwierzętach

W procedurach uczestniczyły zwierzęta co najmniej 21-dniowe. Wszystkie prezentowane wyniki dotyczą nagrań elektrofizjologicznych wykonanych na zwierzętach w wieku 29-50 dni. Eksperymenty dotyczące Int-SOM (eksperymenty z wykorzystaniem myszy SOM-Cre x Ai14) opisane w rozdziałach 4.1.1-6. wykonano wyłącznie na samcach. Wszystkie pozostałe eksperymenty opisane w pracy były wykonywane na myszach obojczy płci. Opisanie niżej procedury dotyczące zwierząt zostały zaakceptowane przez I Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Warszawie (numery zgód: 172/2016 i 841/2019).

3.2.1. Przyzwyczajanie zwierząt do unieruchomienia

Przed przeprowadzeniem protokołu uczenia myszy były przyzwyczajane do unieruchomienia głowy i karku w specjalnie przygotowanym urządzeniu unieruchamiającym. Zwierzęta w tym czasie przyzwyczajają się również do pomieszczenia eksperymentalnego, w którym wykonywano na nich kolejne etapy procedury. Pojedyncza sesja habituacji do unieruchomienia trwała 10 min. Każde zwierzę przechodziło dziennie jedną sesję przez 5 następujących po sobie dni. Sesje były wykonywane o stałej porze w dwóch pierwszych godzinach fazy jasnej.

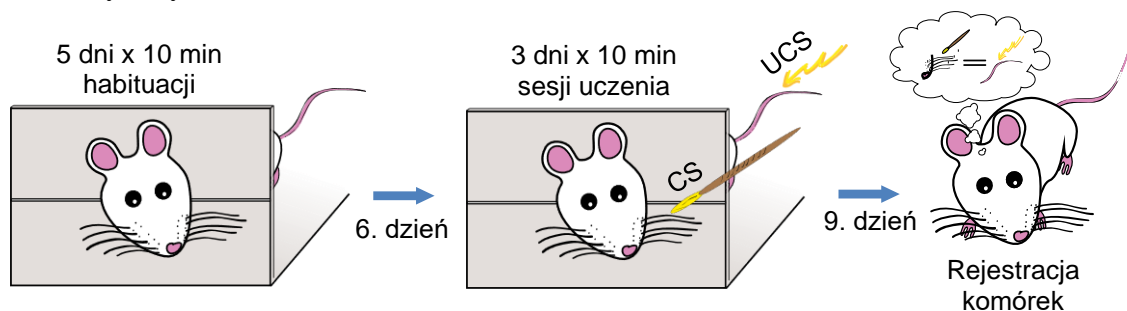
3.2.2. Grupa zwierząt kontrolnych - Naiwnych

Zwierzęta grupy Naiwnej nie doświadczały żadnej manipulacji ze strony eksperymentatora, również nie były przyzwyczajane do unieruchomienia. Myszy tej grupy żyły w swoich klatkach bytowych do czasu pobrania tkanki.

3.2.3. Grupa zwierząt warunkowanych - CS+UCS

Myszy grupy CS+UCS (warunkowanej) przechodziły 5 sesji przyzwyczajających do unieruchomienia. Następnego dnia po ostatniej sesji przyzwyczajania zwierzę poddawano procedurze warunkowania awersyjnego. Podczas tej czynności mysz była

unieruchamiana, tak jak w sesji habituacyjnej, a ogon zwierzęcia połączony był za pomocą klipsa do elektrycznego stymulatora ACS100 (Circlelabs, Polska). Następnie ręcznie przy pomocy pędzelka odchyłano rząd B wibrys po lewej stronie pyszczka myszy w kierunku od tyłu pyszczka do jego przodu – bodziec warunkowy (ang. *conditioned stimulus*, CS). Każde odgięcie trwało 3 s, było przeprowadzane płynnym ruchem i powtarzane 3-krotnie. W trzeciej, końcowej sekundzie ostatniego odgięcia podawano bodziec elektryczny (0,5 mA, 0,5 s) w ogon myszy – bodziec bezwarunkowy (ang. *unconditioned stimulus*, UCS). Następnie po 6 s powyższą czynność powtarzano (Siucinska i Kossut, 1996). W ciągu minuty przeprowadzano cztery takie skojarzenia obydwu bodźców, co po zakończeniu sesji trwającej 10 min dawało 40 skojarzeń. Każde zwierzę z grupy CS+UCS przechodziło trzy takie sesje w następujących po sobie dniach (ryc. 3.1.), w trakcie których otrzymywało w sumie 120 skojarzeń bodźca CS z UCS. Sesje warunkowania przeprowadzano o stałej porze, w dwóch pierwszych godzinach fazy jasnej, tak jak sesje habituacyjne. Po przeprowadzonej sesji myszy wracały do klatek bytowych.

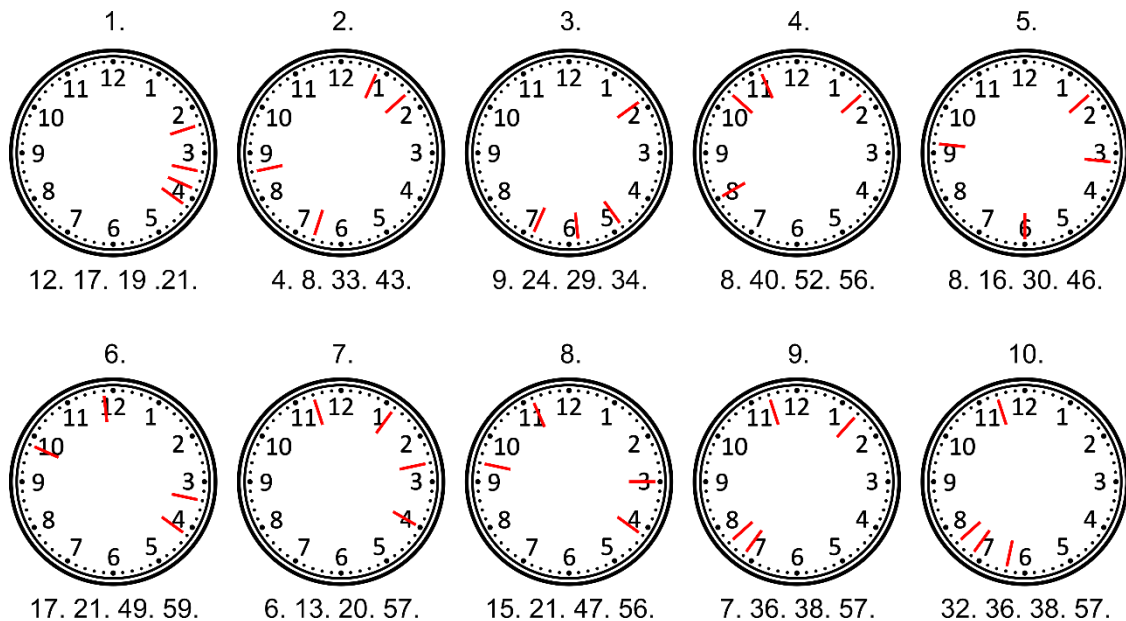


Ryc. 3.1. Schemat przedstawiający procedurę warunkowania zwierząt.
Opis w tekście

3.2.4. Grupa zwierząt pseudowarunkowanych - Pseudo.

Zwierzęta grupy Pseudo. (pseudowarunkowanej), tak jak zwierzęta grupy CS+UCS, przechodziły 5 sesji przyzwyczajających do unieruchomienia. Podawanie bodźca warunkowego (odginanie wibrys) było realizowane tak, jak w grupie zwierząt CS+UCS. Również liczba powtórzeń bodźca CS była identyczna w obu grupach. Bodziec bezwarunkowy (elektryczny szok w ogon) był dostarczany w sposób zrandomizowany (nie skojarzony z bodźcem CS). Aby zapewnić losowość bodźca UCS przygotowano schemat w oparciu o tablicę liczb losowych (Łomnicki, 2014), którego miniatura została zamieszczona na ryc. 3.2. Myszy grupy Pseudo., w trakcie trzech sesji pseudowarunkowania przeprowadzanych w trakcie trzech kolejnych dni, otrzymywały łącznie 120 bodźców elektrycznych w ogon, tak jak osobniki grupy CS+UCS. Sesje

pseudowarunkowania przeprowadzano o stałej porze, w dwóch pierwszych godzinach fazy jasnej. Po skończonej sesji myszy wracały do swoich klatek bytowych.



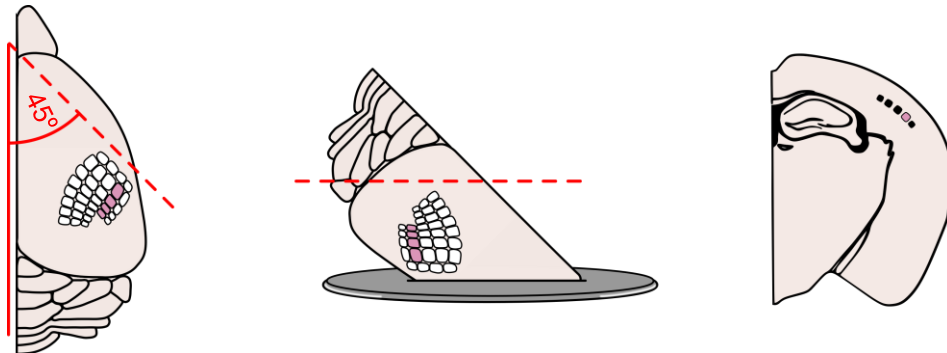
Ryc. 3.2. Tablica wykorzystywana podczas pseudowarunkowania zwierząt.

Czerwone linie na tarczach zegarów wskazują czasy podania bodźców elektrycznych w ogon myszy. Liczby pod tarczami reprezentują sekundy, w których dostarczano bodziec elektryczny, w każdej z dziesięciu minut pseudowarunkowania.

3.3. Preparacja skrawków mózgu myszy

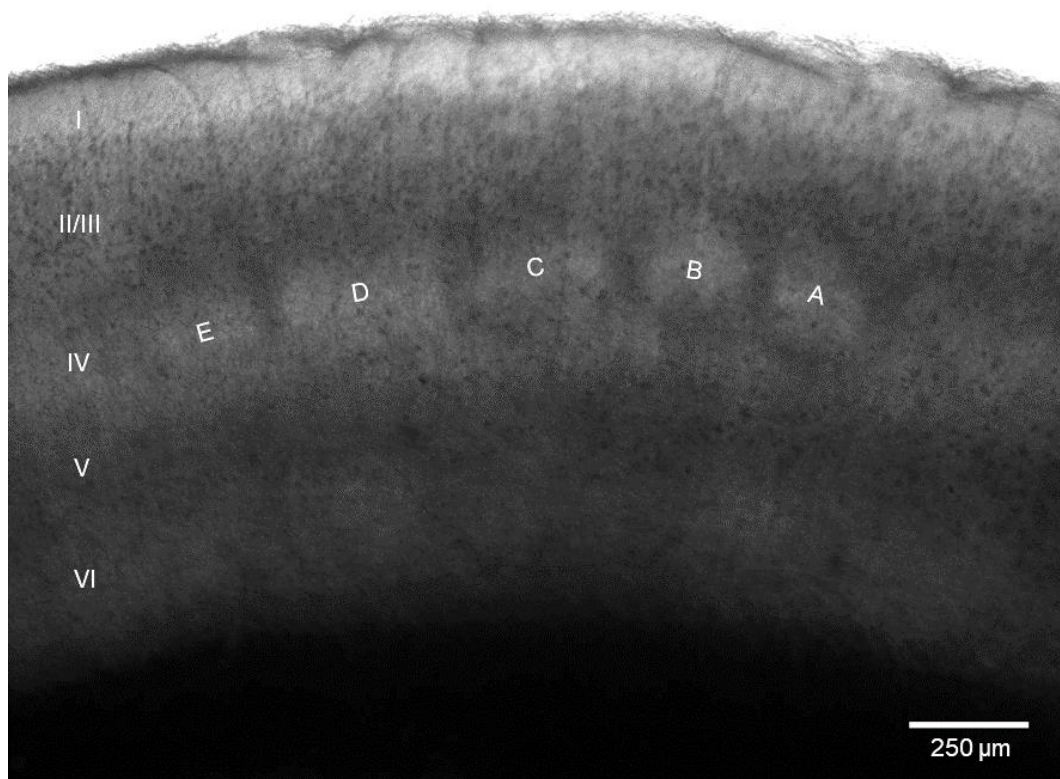
Około 24 godziny po trzecim dniu warunkowania lub pseudowarunkowania myszy były poddawane anestezji wziewnej przy użyciu izofluranu (~5% we wdychanym powietrzu; Iso-Vet), w celu pobrania mózgu. Do dalszych doświadczeń brano tylko prawą półkulę, także w wypadku zwierząt naiwnych. Następnie przy użyciu specjalnej metalowej matrycy, odcinano przedni fragment mózgu pod kątem 45° w stosunku do płaszczyzny strzałkowej i przyklejano półkulę jej przednią stroną do metalowej podstawki wibratomu (Leica VT1000 S, Niemcy) (ryc.3.3.). Powyżej opisana procedura zapewnia krojenie mózgu w poprzek pięciu rzędów baryłek A-E, tak aby otrzymać skrawki zawierające po jednej baryłce z każdego z rzędów (Finnerty i in., 1999; ryc. 3.4.). Grubość krojonych skrawków wynosiła 350 μm. Skrawki krojono w schłodzonym (2-3°C) roztworze sztucznego płynu mózgowo rdzeniowego (ang. *artificial cerebrospinal fluid*, ACSF) (tab. 3.1.). W celu natlenienia i obniżenia pH, roztwór ten traktowano mieszaniną gazową: karbogen w stosunku objętościowym 95% O₂/5% CO₂. Skrawki umieszczano w specjalnie przygotowanej komorze inkubacyjnej znajdującej się w łaźni wodnej utrzymującej stałą temperaturę 30°C. Komora ze skrawkami była wypełniona roztworem ACSF równoważonym karbogenem. Po 5 minutach komorę ze skrawkami

przenoszono poza łaźnię, a skrawki utrzymywano dalej w temperaturze pokojowej. Komora ze skrawkami była chroniona przed nadmiarem światła, aby zmniejszyć degradację fluorescencyjnych znaczników.



Ryc. 3.3. Schemat prezentujący sposób preparacji skrawków mózgu.

Lewa część ryciny przedstawia płaszczyznę krojenia (przerywana linia) znajdującą się pod kątem 45° w stosunku do płaszczyzny strzałkowej. Na rysunku zaznaczono również przestrzenną orientację kory baryłkowej. **Środkowa** część ryciny przedstawia fragment mózgu umieszczony na podstawce wibratomu i płaszczyznę krojenia skrawków (przerywana linia). **Prawa** część ryciny prezentuje skrawek mózgowy wraz z zaznaczonymi baryłkami rzędów A-E. Na wszystkich rysunkach zaznaczono różowym kolorem baryłki rzędu B.



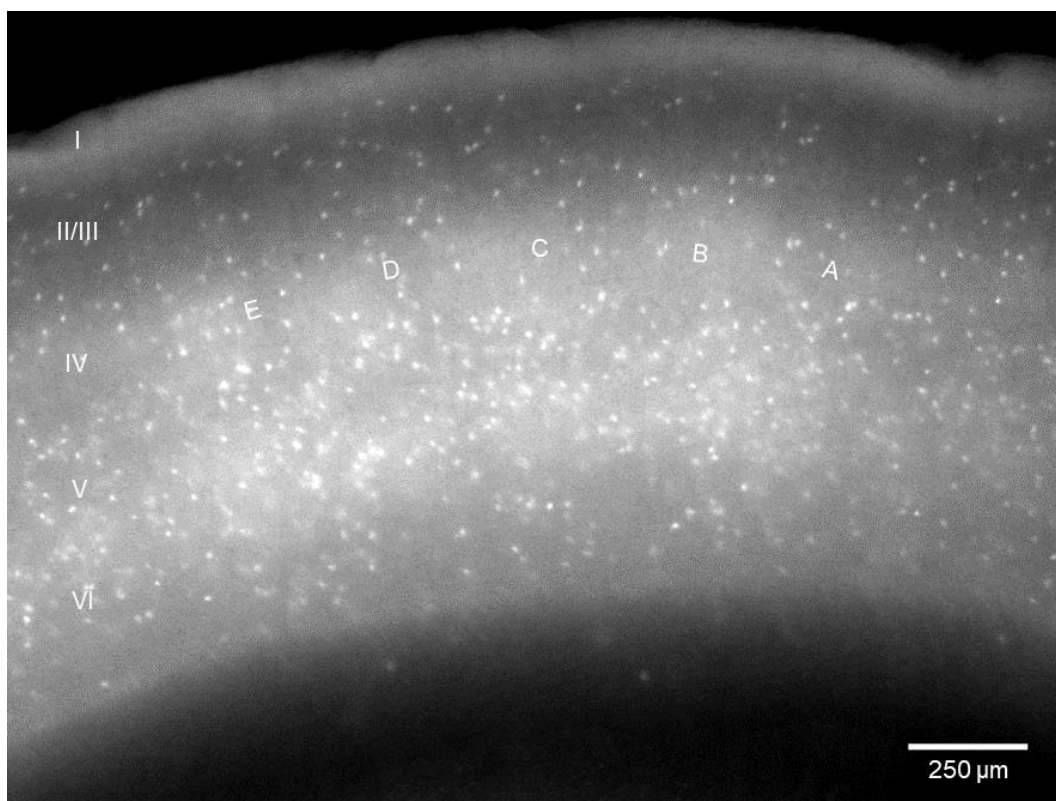
Ryc. 3.4. Zdjęcie mikroskopowe skrawka mózgowego myszy wykonane w technice jasnego pola. Fotografia przedstawia fragment kory baryłkowej wraz z zaznaczonymi baryłkami i warstwami kory.

	ACSF	mACSF
Substancja	Stężenie [mM]	
NaCl	113,0	113,0
KCl	2,5	3,5
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	1,0	1,0
NaHCO ₃	26,2	26,2
Glukoza	11,0	11,0
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	2,0	0,5
CaCl ₂ · 2 H ₂ O	2,0	1,0

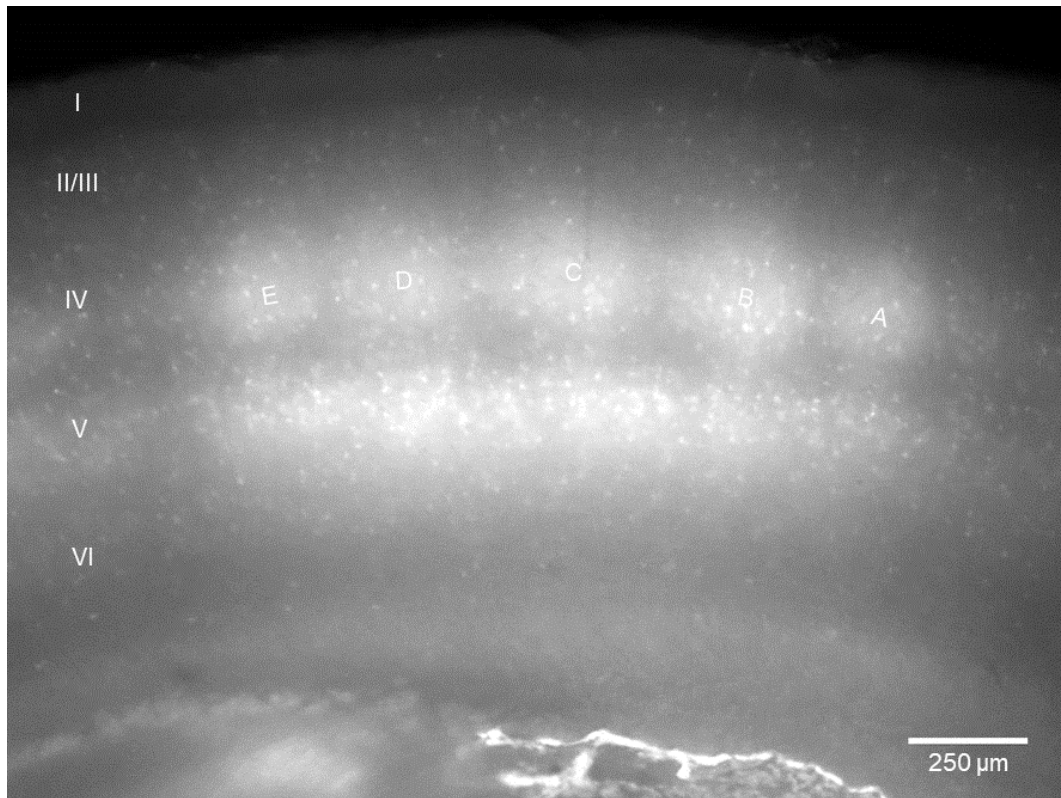
Tab. 3.1. Roztwory zewnątrzkomórkowe: ACSF i mACSF.
Składy roztworów i stężenia molowe składników.

3.4. Identyfikacja wybranych typów interneuronów

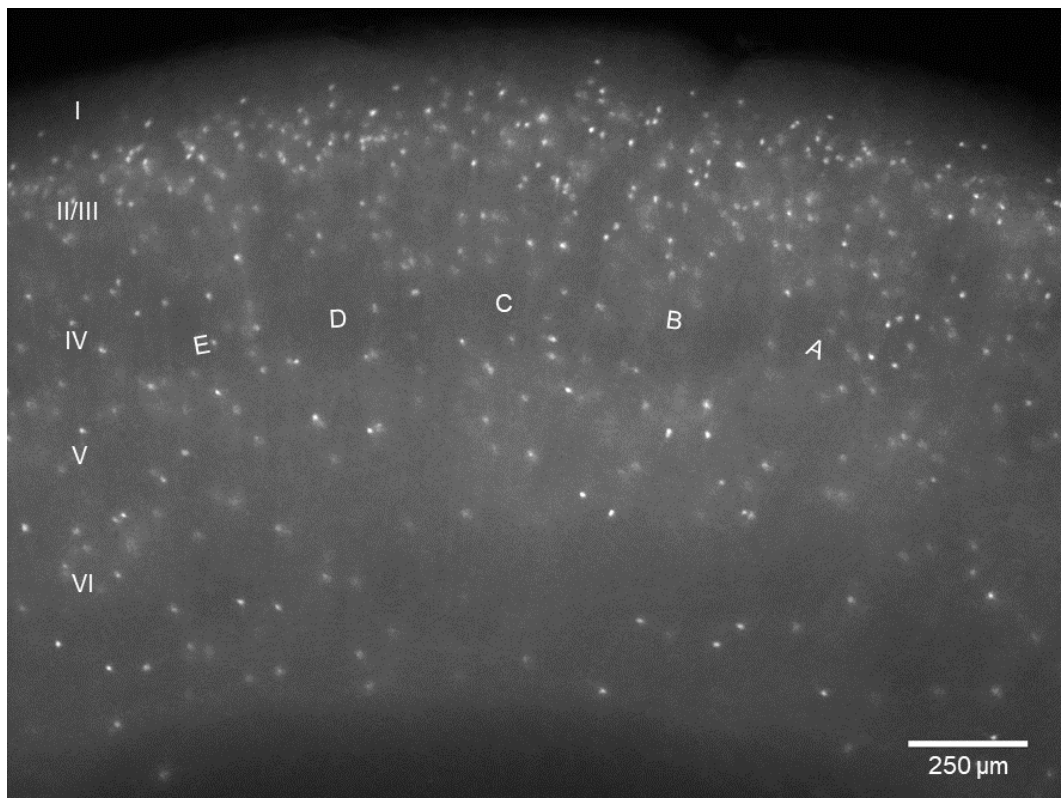
Wykonywano rejestracje z neuronów znajdujących się w warstwie IV, w baryłkach B, czyli w reprezentacjach korowych wibrys stymulowanych w czasie procedury uczenia. Pole baryłkowe było rozpoznawane dzięki obrazowaniu w świetle przechodzącym (ryc. 3.4.). Poszczególne grupy interneuronów były rozpoznawane dzięki obecności czerwonego barwnika fluorescencyjnego w komórce – tdTomato (ryc. 3.5–3.7.).



Ryc. 3.5. Skrawek mózgowy myszy SOM-Cre x Ai14 z wyznakowanymi (tdTomato) Int-SOM w korze baryłkowej.



Ryc. 3.6. Skrawek mózgowy myszy PV-Cre x Ai14 z wyznakowanymi (tdTomato) Int-PV w korze baryłkowej.



Ryc. 3.7. Skrawek mózgowy myszy VIP-Cre x Ai14 z wyznakowanymi (tdTomato) Int-VIP w korze baryłkowej.

Rejestracje interneuronów z grupy Naiwnej były wykonywane głównie z baryłek rzędu B, ale sporadycznie rejestrowano również interneurony w rzędach A, C i D – komórki te włączono w dalszą analizę. W ten sposób ograniczono liczbę zwierząt potrzebną do wykonania eksperymentu. Założono brak różnic między danymi pochodzącymi z baryłek różnych rzędów w zwierzętach kontrolnych (naiwnych). Taką kontrolę niekiedy stosuje się w badaniach nad uczeniem z wykorzystaniem modelu kory baryłkowej (Tokarski i in., 2007).

3.5. Rejestracje elektrofizjologiczne z pojedynczych neuronów metodą *whole-cell patch-clamp*

Rejestracje z pojedynczych neuronów ze skrawków rozpoczynano po około godzinie od zakończenia cięcia. Pojedynczy skrawek umieszczano w komorze zamontowanej pod obiektywem mikroskopu. Skrawki obrazowano przy użyciu prostego mikroskopu fluorescencyjnego Examiner A1 (Zeiss, Niemcy) wyposażonego w dwa obiektywy: suchy obiektyw o 4-krotnym powiększeniu i obiektyw immersyjny o 20-krotnym powiększeniu. Mikroskop był wyposażony w dwa filtry wzbudzające, jeden dla światła niebieskiego i drugi dla zielonego, oraz w pryzmat Nomarskiego i kompensator de Sénarmont'a do różnicowego kontrastu interferencyjnego. Obraz był rejestrowany za pomocą kamery CCD Retiga ELECTRO (QImaging, Kanada).

Podczas rejestracji pobudliwości własnej i aktywności spontanicznej badanych interneuronów, a także w czasie rejestracji pobudzenia dochodzącego do tych komórek (rozdz. 4.1.1-6., 4.2.1-6. oraz 4.3.1-11.) stosowany był, jako roztwór zewnątrzkomórkowy, modyfikowany roztwór ACSF (mACSF, tab. 3.1.). Natomiast w eksperymentach z optogenetycznym wywoływaniem IPSCs (rozdz. 4.1.7, 4.2.7. oraz 4.3.12.) stosowano regularny ACSF (tab. 3.1.).

Standardowy (regularny) ACSF skomponowany jest tak, aby zmniejszyć naturalną aktywność spontaniczną neuronów oraz zwiększyć efektywność przekazywania synaptycznego (Alger i in., 1984). Skład mACSF jest dobrany tak, aby odwzorowywał naturalny płyn mózgowo rdzeniowy, to powoduje, że neurony są bardziej aktywne spontanicznie (Maffei i in., 2004; Urban-Ciecko i in., 2015). mACSF w porównaniu z regularnym ACSF cechuje się zwiększonym stężeniem jonów potasu, a obniżoną zawartością jonów magnezu i wapnia (tab. 3.1.). Zwiększenie stężenia jonów potasu w ACSF prowadzi do przesunięcia potencjału równowagi dla prądów IPSC w kierunku wartości mniej spolaryzowanych (prawdopodobnie poprzez podniesienie

wewnątrzkomórkowego stężenia Cl^-), to z kolei ma wpływ na zmniejszenie amplitudy tych prądów oraz hamowania, a w konsekwencji podwyższa aktywność komórek pobudzających (Chamberlin i Dingledine, 1988). Większe zewnątrzkomórkowe stężenie potasu powoduje również depolaryzację błony komórkowej (Scholfield, 1978). Jony magnezu są natomiast odpowiedzialne za blok receptorów NMDA (Paoletti i Neyton, 2007), a ich naturalne stężenie w płynie mózgowordzeniowym zapobiega epileptycznej aktywności mózgu (Haensch, 2010; Voss i Sleigh, 2010). Jony wapnia z kolei są niezbędne w przekaznictwie synaptycznym, a ich zmniejszona koncentracja wpływa negatywnie na to przekaznictwo (Dingledine i Somjen, 1981). Jednocześnie wzrost zewnątrzkomórkowego stężenie wapnia wpływa pozytywnie na AHPs zależne od prądu potasowego (Hotson i Prince, 1980), a niskie stężenie jonów wapna często stosowane jest do wywoływania aktywności epileptycznej w skrawkach mózgowych (Agopyan i Avoli, 1988; Pan i in., 1992; Warren i Durand, 1998).

Jako roztwór wewnątrzkomórkowy stosowany był roztwór D-glukonianu potasu (K-glukonian, tab. 3.2.).

Substancja	[mM]
K-glukonian	125,0
HEPES	10,0
EGTA	0,5
KCl	2,0
ATP · xMg ²⁺	4,0
GTP · xNa ⁺	0,3
	pH
NaOH	7,2
	mOsm/kg
Sacharoza	290,0

Tab. 3.2. Roztwór wewnątrzkomórkowy.
Skład, stężenia molowe składników, pH i osmolalność.

Elektrody do rejestracji z neuronów były przygotowywane z kapilar ze szkła borokrzemowego (1B120F-4, WPI, Stany Zjednoczone) przy użyciu wyciągarki P-97 (Sutter Instrument, Stany Zjednoczone), a ich opór elektryczny wynosił 5-8 MΩ. Pomiarzy elektrofizjologiczne były realizowane przy pomocy programu Clampex 10.6.2.2.

z wykorzystaniem wzmacniacza Multiclamp 700B i przetwornika analogowo-cyfrowego Axon Digidata 1550B (Molecular Devices, Stany Zjednoczone). Sygnał analogowy był filtrowany z częstotliwością 3kHz i próbkowany z częstotliwością 20 kHz.

3.5.1. Rejestracje potencjału spoczynkowego, oporu dostępowego i oporu wejściowego

Wszystkie rejestracje przeprowadzono z wykorzystaniem techniki *whole-cell patch-clamp*. Technika ta pozwala rejestrować różnicę potencjału (napięcie elektryczne) między wnętrzem komórki a środowiskiem w jakim się ona znajduje – potencjał elektryczny błony. Możliwe jest to dzięki wykorzystaniu szklanej pipety, która stykając się z błoną lipidową tworzy połączenie o bardzo dużym oporze elektrycznym (Hille, 2001).

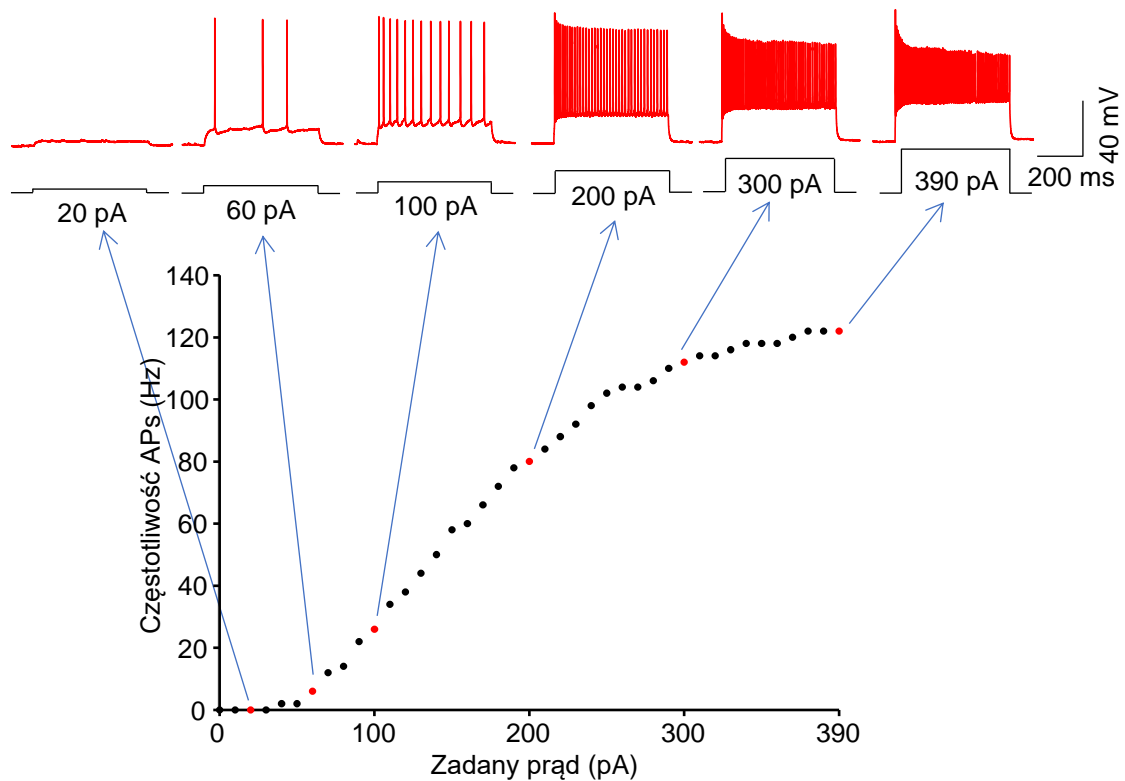
Potencjał spoczynkowy, opór dostępowy (ang. *access/series resistance*) oraz wejściowy były monitorowane przez cały czas trwania rejestracji. Parametry oporów były mierzone w trybie stabilizacji prądu (ang. *current clamp*) jako odpowiedź błony neuronu na puls o natężeniu -10 pA i czasie trwania 500 ms lub w trybie stabilizacji napięcia (ang. *voltage clamp*) w odpowiedzi na puls +10 mV (10-50 ms). Rejestracje, w trakcie których nastąpiła zmiana oporu wejściowego lub oporu dostępowego powyżej 30% wartości początkowej, były odrzucane z dalszej analizy.

3.5.2. Rejestracja i analiza pobudliwości własnej interneuronów

Pomiary pobudliwości własnej interneuronów były wykonywane w trybie stabilizacji prądu przy potencjale utrzymywanym w poprzek błony wynoszącym -65 mV. Błonę neuronów depolaryzowano prostokątnymi pulsami prądowymi o czasie trwania 500 ms i amplitudzie natężenia zwiększającej się o 5-20 pA co 12 s. W zależności od typu badanego interneuronu, w każdym kolejnym kroku stymulacji zwiększano natężenie prądu o 5 pA (Int-VIP), 10 pA (Int-SOM) lub 20 pA (Int-PV) do uzyskania zjawiska bloku depolaryzacyjnego (zmniejszenia się częstotliwości APs) po wywołaniu maksymalnej częstotliwości wyładowań.

Następnie wykreślano krzywe zależności częstotliwości wyładowań od zadanego prądu (ang. *frequency-current curve*, F-I) (ryc. 3.8.) i dopasowywano krzywą sigmoidalną (ryc. 3.9.) metodą regresji nieliniowej w programie SigmaPlot 14.0 (Systat Software Inc., Stany Zjednoczone). Analiza krzywych sigmoidalnych, w odróżnieniu od prostych porównań krzywych zależności częstotliwości wyładowań od zadanego prądu,

ma tę zaletę, że pozwala w dokładniejszy sposób badać dynamikę pobudliwości komórek. Krzywa sigmoidalna była opisana funkcją: $f = a \cdot x^b / (c^b + x^b)$. W ten sposób pobudliwość własną każdej komórki odzwierciedlała krzywa sigmoidalna opisana trzema parametrami. Parametr „a” odzwierciedla maksymalną wartość osiąganą przez krzywą sigmoidalną. Parametr „b” określa nachylenie krzywej sigmoidalnej, im jest on mniejszy tym krzywa nachylona jest pod większym kątem (jest bardziej stroma). Parametr ten ma wartość bezwymiarową. Parametr „c” opisuje punkt środkowy krzywej sigmoidalnej, czyli punkt na osi x, któremu odpowiada połowa maksymalnej częstotliwości wyładowań osiągniętych przez krzywą. Komórki, których parametry pobudliwości własnej były gorzej tłumaczone przez stosowany model (skorygowany $R^2 \geq 0,96$), zostały wykluczone z analizy.

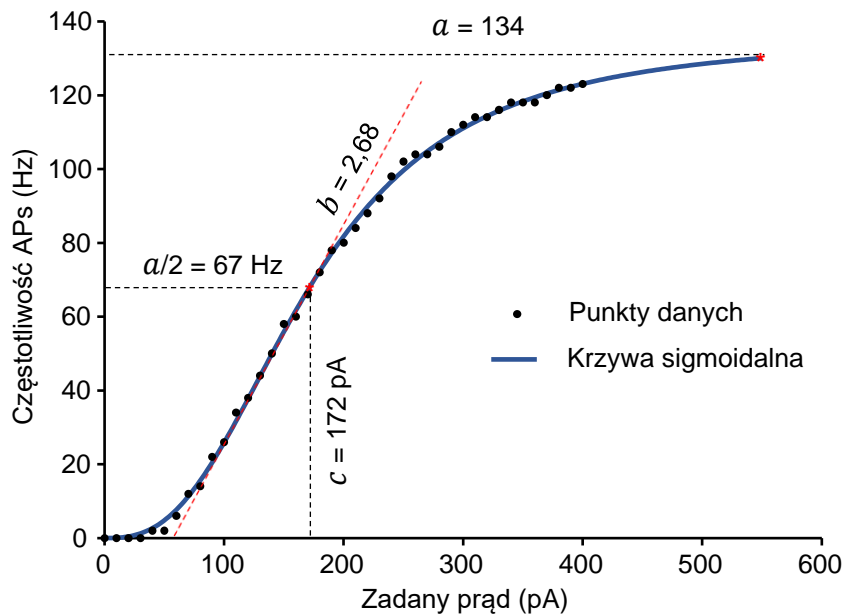


Ryc. 3.8. Krzywa sigmoidalna dopasowana do danych pobudliwości własnej.

Górna część ryciny przedstawia funkcję opisującą krzywą sigmoidalną wraz z wyjaśnieniem parametrów tej funkcji. **Dolna** część ryciny prezentuje krzywą sigmoidalną dopasowaną do danych pobudliwości własnej.

$$f(x) = \frac{a * x^b}{c^b + x^b}$$

a – maksymalna wartość krzywej
 b – nachylenie krzywej
 c – punkt środkowy krzywej



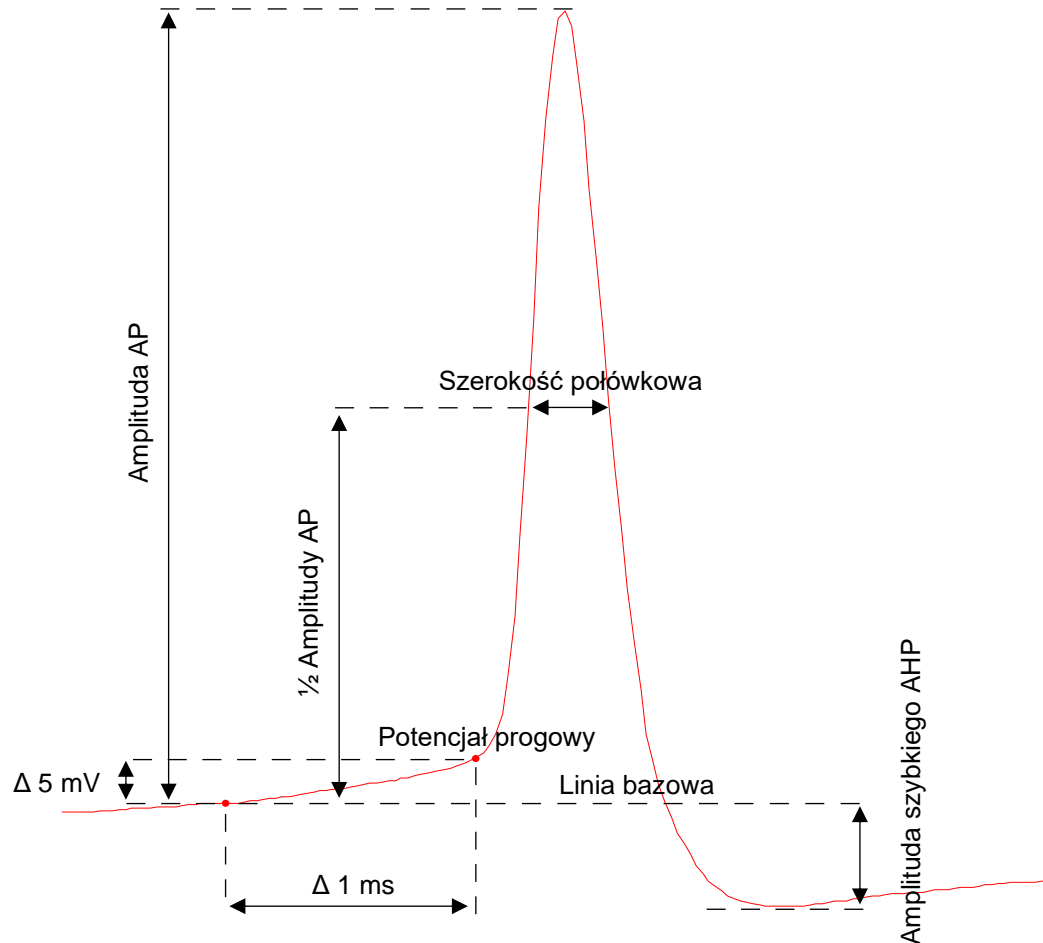
Ryc. 3.9. Pobudliwość własna Int-SOM.

Górna część ryciny przedstawia przykładowe wyładowania Int-SOM w odpowiedzi na prostokątny puls prądowy o wzrastającej amplitudzie natężenia (czarne „schodki”). Dolna część ryciny przedstawia funkcję częstotliwości APs w odniesieniu do zadanego prądu (czerwone punkty odpowiadają wyładowaniom umieszczonym w górnej części ryciny).

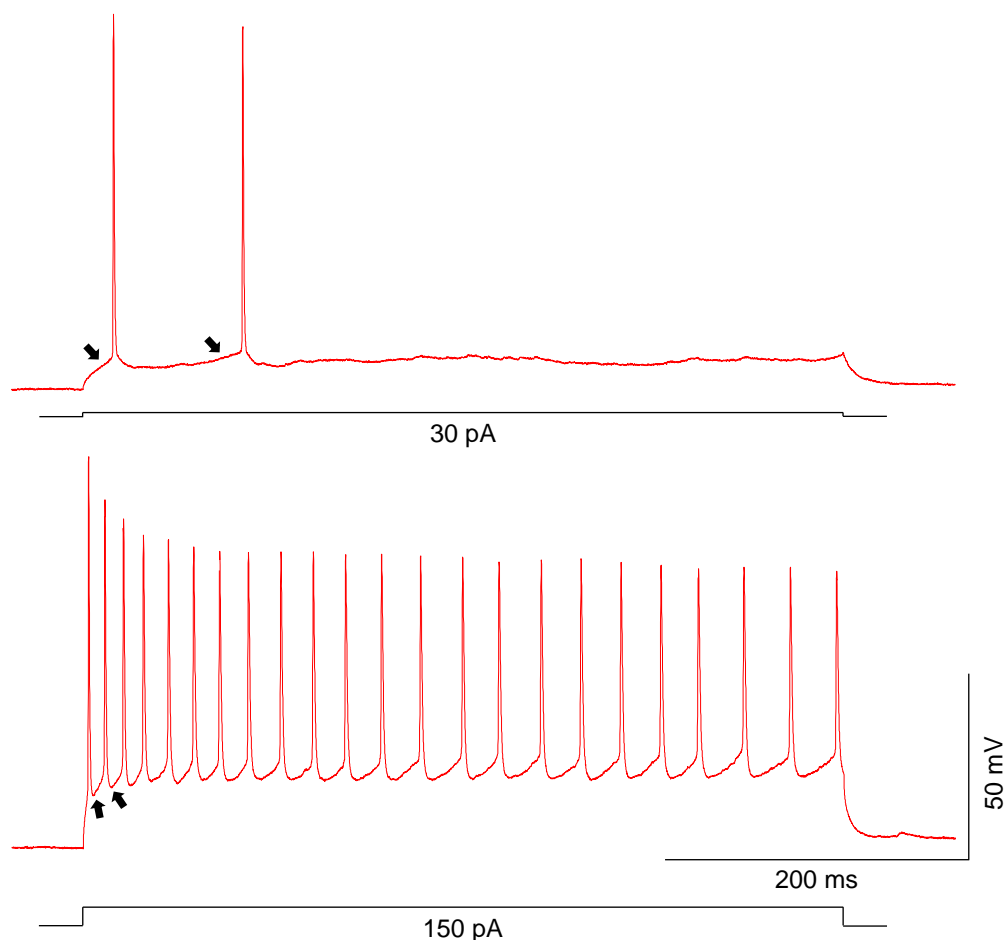
3.5.3. Analiza parametrów kształtów APs i adaptacji wyładowań

Potencjał progowy błony dla AP wyznaczano w punkcie, w którym potencjał błony zmniejszył się o 5 mV w stosunku do wartości sprzed 1 ms (5 mV/1 ms) (ryc. 3.10.). Jako bazowy potencjał traktowano wtedy potencjał jaki komórka posiadała 1 ms przed osiągnięciem potencjału progowego. Potencjał bazowy posłużył do zmierzenia kolejnych trzech parametrów. Amplitudę AP mierzono między potencjałem bazowym a szczytem AP. Szerokość połówkową AP liczono w połowie zmierzonej amplitudy AP. Amplitudę szybkiego AHP liczono między punktem najniższego zanotowanego potencjału w czasie 2 ms od szczytu AP a wartością bazową potencjału błony. Dla każdej komórki analizowano po jednym AP przy minimalnej, połowie maksymalnej i maksymalnej częstotliwości wyładowań. Ze względu na niewielkie różnice między wynikami uzyskanymi dla tych trzech częstotliwości, w pracy przedstawiono tylko analizy dotyczące maksymalnej częstotliwości. Analizowano drugi AP w serii wyładowań z uwagi na fakt, że pierwszy AP najczęściej różni się w sposób znaczący od pozostałych (Beierlein i in., 2003; Cauli i in., 1997; Deans i in., 2001; ryc. 3.11.)

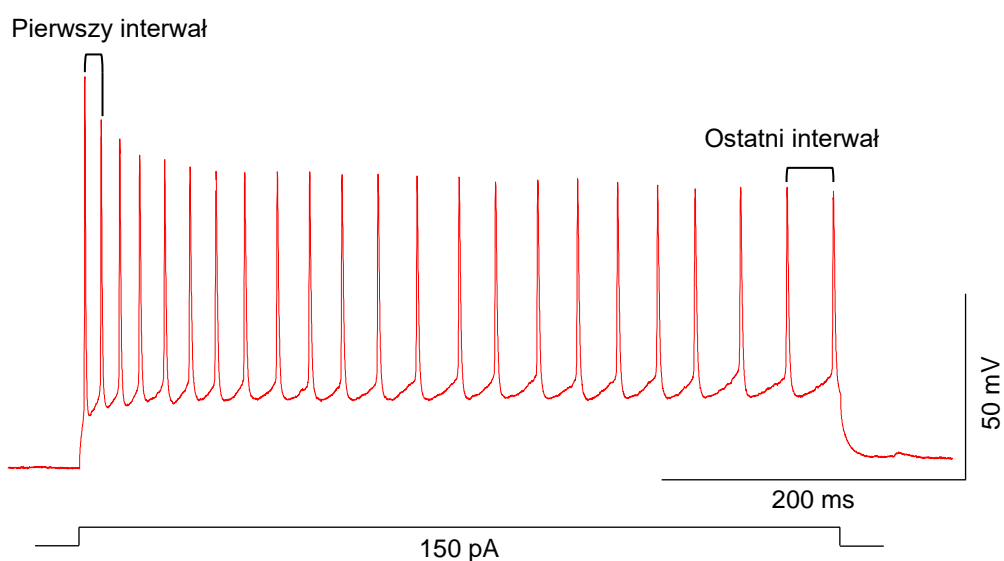
Pierwszy i ostatni interwał między APs w serii wyładowań były wyliczane przez program Clampfit 10.6.2.2. (Molecular Devices, Stany Zjednoczone) pomiędzy czasem szczytów kolejnych APs. Interwały analizowano w punkcie maksymalnej częstotliwości wyładowań. Adaptacja wyrażona została jako stosunek ostatniego interwału względem pierwszego interwału w serii wyładowań (ryc. 3.12.).



Ryc. 3.10. Schemat prezentujący sposób pomiaru parametrów AP.
Opis w tekście



Ryc. 3.11. Różnica między pierwszym AP a kolejnymi APs w przykładowych wyładowaniach Int-SOM. Górna część ryciny przedstawia różnice w dynamice depolaryzacji błony między pierwszym a drugim AP (czarne strzałki). Dolna część ryciny prezentuje różnice w amplitudzie AHPs po pierwszym i drugim AP (czarne strzałki). Poniżej każdej serii wyładowań umieszczono odzwierciedlenie prostokątnego pulsu prądowego, którym depolaryzowano błonę komórkową.



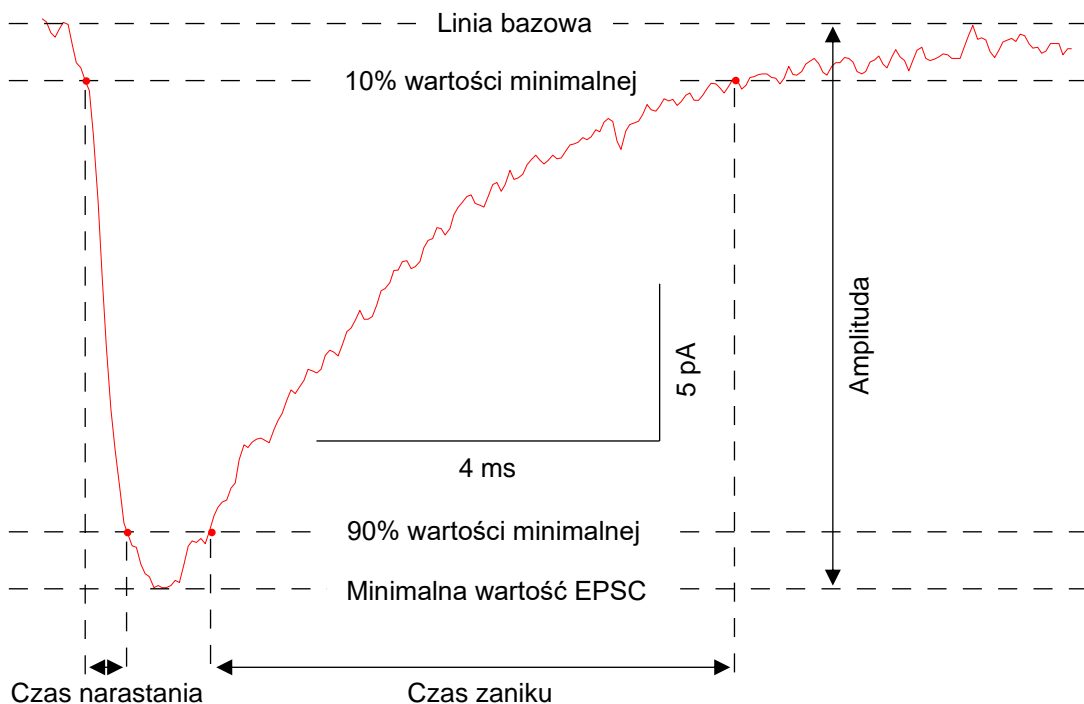
Ryc. 3.12. Przykładowe wyładowania Int-SOM z zaznaczonymi interwałami między APs. Adaptacja mierzona była poprzez stosunek ostatniego interwału względem pierwszego interwału między APs wywołanymi prostokątnym pulsem prądowym (czarny „schodek” poniżej wyładowań).

3.5.4. Rejestracje i analiza aktywności spontanicznej

Aktywność spontaniczna (spontanicznie pojawiające się APs) była nagrywana w trybie stabilizacji prądowej, przy potencjale spoczynkowym (własnym) komórki. Częstotliwość APs mierzono jako liczbę APs w czasie rejestracji trwającej ok. 3 minuty i wyrażano w hercach.

3.5.5. Rejestracje i analiza sEPSCs

Spontaniczne postsynaptyczne prądy pobudzające (ang. *spontaneous excitatory postsynaptic currents*, sEPSCs) były nagrywane w trybie stabilizacji napięcia przy potencjale -70 mV. Czas rejestracji z pojedynczego neuronu wynosił ok. 3 min. sEPSCs były wyszukiwane z użyciem funkcji *template search* program Clampfit. Analiza parametrów sEPSCs była wykonywana automatycznie przez program. Częstotliwość w tym programie jest wyliczana przez uśrednienie interwałów pomiędzy poszczególnymi wydarzeniami EPSCs, a następnie przekształcana na częstotliwość ($=1/(\text{średnia interwału}/1000)$) (Molecular Devices LLC, 2020). Natomiast amplituda EPSC jest automatycznie wyliczana pomiędzy minimum EPSC a linią bazową arbitralnie ustaloną dla szablonu (ryc. 3.13.). Czas narastania EPSC był czasem, w którym EPSC narastało pomiędzy 10 a 90 punktem procentowym amplitudy prądu. Z kolei czas zaniku EPSC to czas, w którym EPSC zanikało między 90 a 10 punktem procentowym amplitudy prądu.

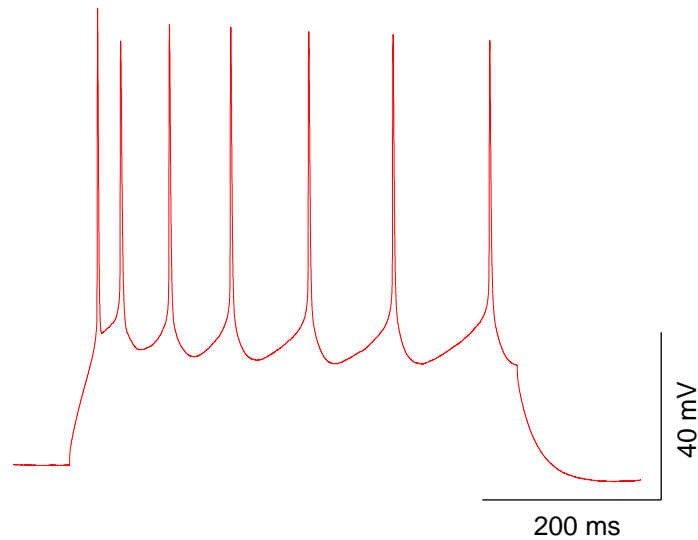


Ryc. 3.13. Schemat prezentujący sposób pomiaru parametrów sEPSCs.
Opis w tekście

3.6. Rejestracje z neuronów pobudzających

3.6.1. Identyfikacja neuronów pobudzających

Neurony pobudzające były rozpoznawane po ich regularnych wzorach wyładowań (ang. *regular spiking*) oraz braku barwnika fluorescencyjnego (Beierlein i in., 2003; Tokarski i in., 2007; ryc. 3.14.).



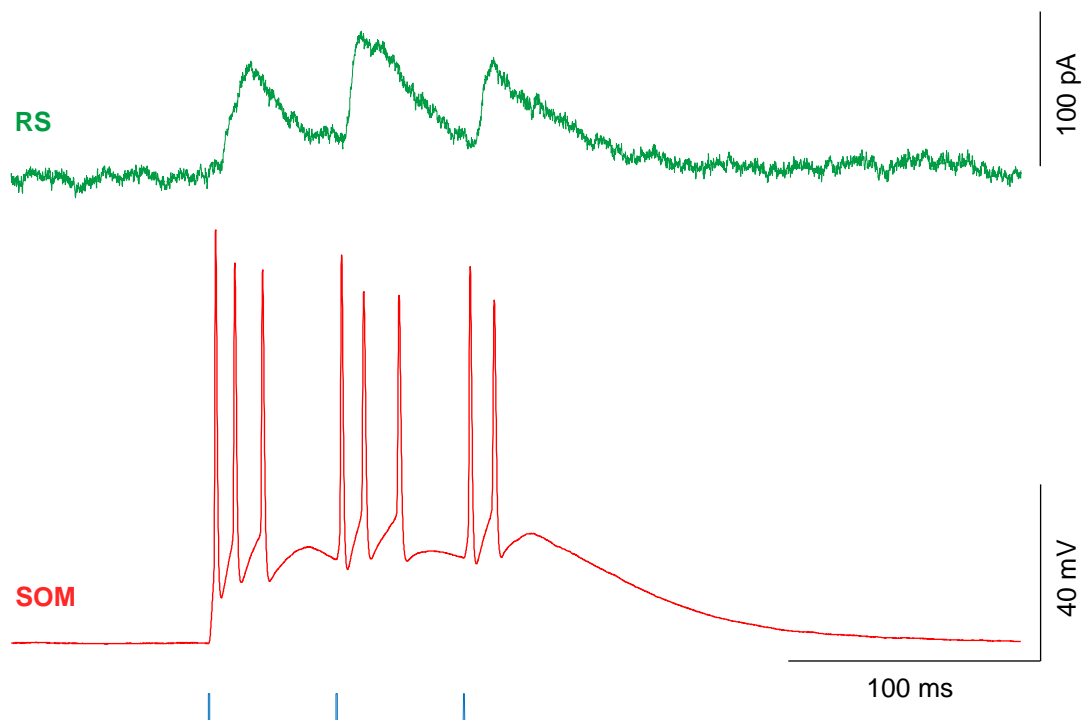
Ryc. 3.14. Regularny wzór wyładowań neuronu pobudzającego.

3.6.2. Rejestracje i analiza eIPSCs oraz frakcji unerwianych komórek pobudzających przez Int-VIP

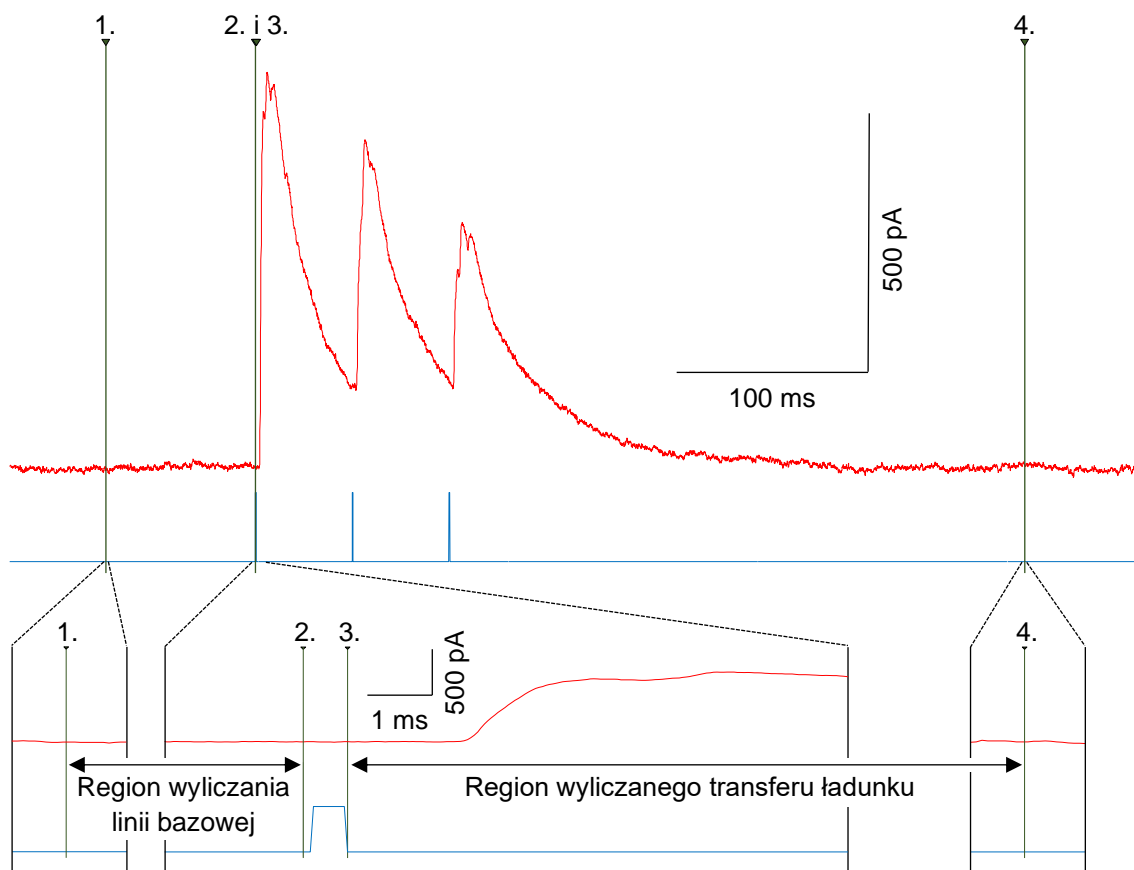
W eksperymentach z wywoływanymi postsynaptycznymi prądami hamującymi (ang. *evoked inhibitory postsynaptic currents*, eIPSCs) wykorzystano myszy z ekspresją ChR2 w wybranych grupach interneuronów GABAergicznym (materiały i metody, rozdział 3.1.). Wywołane postsynaptyczne prądy hamujące były nagrywane w trybie stabilizacji napięcia w komórkach pobudzających przy potencjale odwrócenia dla prądów AMPA i NMDA wynoszącym 0 mV. IPSCs w komórkach pobudzających wywoływano optogenetycznie wzbudzając wybraną grupę interneuronów GABAergicznym za pomocą ChR2. Opsyna ta była aktywowana niebieskim światłem (470 nm; 3,1 mW) dostarczonym przez obiektyw o 20-krotnym powiększeniu przy użyciu kontrolera LED UHPLCC-T (Prizmatix, Izrael). Podawano 3 krótkie pulsy światła o czasie trwania 0,5 ms lub 10 ms w odstępach 50 ms (ryc. 3.15.). Wykonywano 12 powtórzeń stymulacji, czas pomiędzy stymulacjami wynosił 15s. Siłę hamowania pochodzącego od danego typu interneuronów wyrażono jako transfer ładunku (ang. *charge transfer*) (Brickley i in., 1996; Moldavan i in., 2021). W sytuacjach, gdy pojedyncza stymulacja wywołuje kilka zachodzących na siebie eIPSCs, a taką obserwowano, parametr ten lepiej wyraża siłę

hamowania interneuronów niż amplituda eIPSCs. Transfer ładunku był obliczany jako pole powierzchni pod krzywą odpowiedzi neuronu w przedziale czasowym wynoszącym, w zależności od czasu trwania prądów, od 200 do 500 ms (przedział między kursorem 3. a 4. na ryc. 3.16.). Uśredniony sygnał pomiędzy kursorem 1. a 2. posłużył za wartość linii bazowej. Pole pomiędzy sygnałem a linią bazową w programie Clampfit jest obliczane za pomocą całki. Jest ona wyliczana poprzez bezpośrednie zsumowanie wszystkich $y(x_i) \Delta x_i$ pomiędzy dwoma kursorami umieszczonymi na osi x. Dla nagranych sygnału $y(x_i)$ jest amplitudą w punkcie czasowym x_i a Δx_i jest interwałem próbkowania w tym czasie (50 μ s w wypadku analizowanych nagrań). Gdyby rozważano histogram, $y(x_i)$ byłby amplitudą przedziału w punkcie x_i a Δx_i szerokością przedziału i (Molecular Devices LLC, 2012).

Fracja neuronów pobudzających IV warstwy kory baryłkowej unerwianych przez Int-VIP była obliczana na podstawie występowania IPSCs wywołanych 3 pulsami niebieskiego światła, każdy trwający 10 ms. Obecność IPSCs oszacowywano po uśrednieniu 12 zapisów nagranych z pojedynczej komórki. Frakcję unerwianych neuronów pobudzających przedstawiono jako procent populacji zarejestrowanych komórek glutaminianergicznyc, które były hamowane prze Int-VIP.



Ryc. 3.15. Rejestracja w neuronie pobudzającym eIPSCs pochodzących od Int-SOM. Zielony sygnał pokazuje nagrane w neuronie pobudzającym (RS) eIPSCs pochodzące od Int-SOM. Czerwony sygnał pokazuje APs w Int-SOM wywołane aktywacją ChR2. Niebieski sygnał to stymulacja niebieskim światłem ChR2 znajdującej się w Int-SOM.



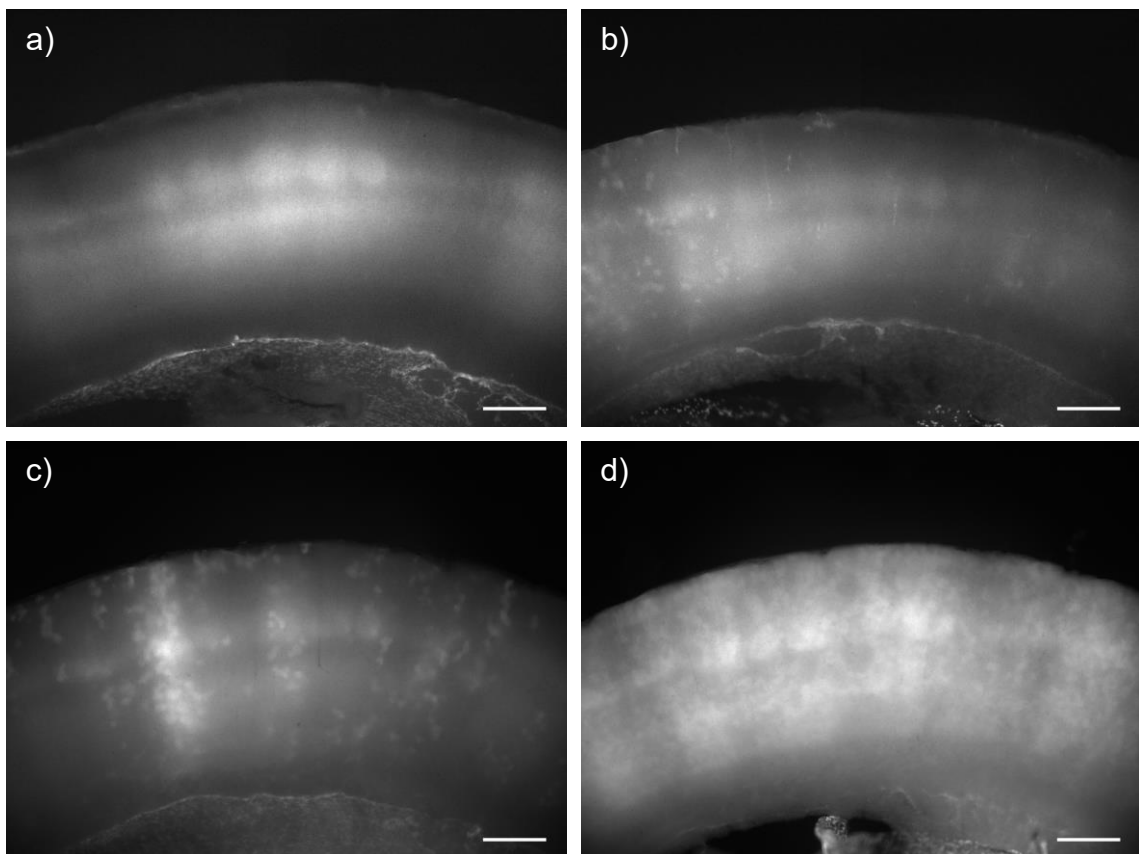
Ryc. 3.16. Schemat prezentujący sposób pomiaru transferu ładunku eIPSCs.

Na czerwono zaprezentowano zarejestrowany sygnał, a **na niebiesko** stymulację światłem. **Dolna** część ryciny pokazuje fragmenty sygnału i stymulacji w zwiększonej skali czasowej (skala osi Y została pomniejszona względem górnego fragmentu ryciny).

3.7. Niespecyficzna ekspresja rekombinazy Cre u myszy PV-Cre x Ai14 oraz PV-Cre x Ai32

W trakcie wykonywania eksperymentu z wykorzystaniem myszy PV-Cre x Ai14 oraz PV-Cre x Ai32 napotkano na problem dotyczący niespecyficznego wyrażenia transgenów u tych zwierząt. W naturalny sposób, u myszy, parwalbumina ekspresjonowana jest w męskich gonadach (Kobayashi i Hensch, 2013). Z tego powodu u myszy PV-Cre może dochodzić do nieoczekiwanych rekombinacji komórek zarodkowych i globalnie niespecyficznego wyrażenia transgenów. Dane literaturowe wskazują na specyficzność ekspresji u myszy PV-Cre sięgającą, w zależności od regionu i warstwy kory, 50-95% – w korze baryłkowej specyficzność ta wynosi ok. 90% (Nigro i in., 2021). Jednak w trakcie doświadczeń z wykorzystaniem myszy PV-Cre x Ai14 i PV-Cre x Ai32 obserwowano bardzo wysoką niespecyficzność ekspresji tdTomato lub ChR2-EYFP. U myszy PV-Cre x Ai14, jak i PV-Cre x Ai32 najmocniejszy sygnał barwnika fluorescencyjnego

w rejonie kory baryłkowej obserwowany jest typowo wewnątrz kolumn czuciowych, w warstwie IV i Vb, czyli w rejonach najliczniejszego występowania Int-PV (Tremblay i in., 2016; ryc. 3.17.a). W trakcie doświadczeń na myszach PV-Cre x Ai14 oraz PV-Cre x Ai32 obserwowano różny stopień niespecyficznego wyrażenia tdTomato lub ChR2-EYFP w mózgu tych zwierząt, począwszy od fluorescencyjnych „łat” poprzez fluorescencyjne „smugi” w poprzek warstw kory, a skończywszy na obecności fluorescencyjnego znacznika w całej korze (ryc. 3.17.b-d). Z tego względu do doświadczeń wybierano tylko myszy o wyrażeniu barwnika ograniczonego do Int-PV lub niewielkiej niespecyficznego wyrażenia barwnika poza kolumnami korowymi rzędu B baryłek i kolumn do nich przylegających (ryc. 3.17.b).



Ryc. 3.17. Wzory wyrażenia ChR2-EYFP w skrawkach mózgowych myszy PV-Cre x Ai32 w korze baryłkowej. (a) Specyficzna, właściwa wyrażenie ChR2-EYFP w Int-PV. (b) Niski stopień niespecyficznego wyrażenia ChR2-EYFP w komórkach kory baryłkowej. (c) Niespecyficzna wyrażenie ChR2-EYFP w korze w postaci „łat” i „kolumn” przechodzących przez warstwy kory. (d) Niespecyficzna wyrażenie obejmująca całą korę. Skala na fotografiach wynosi 250 μm .

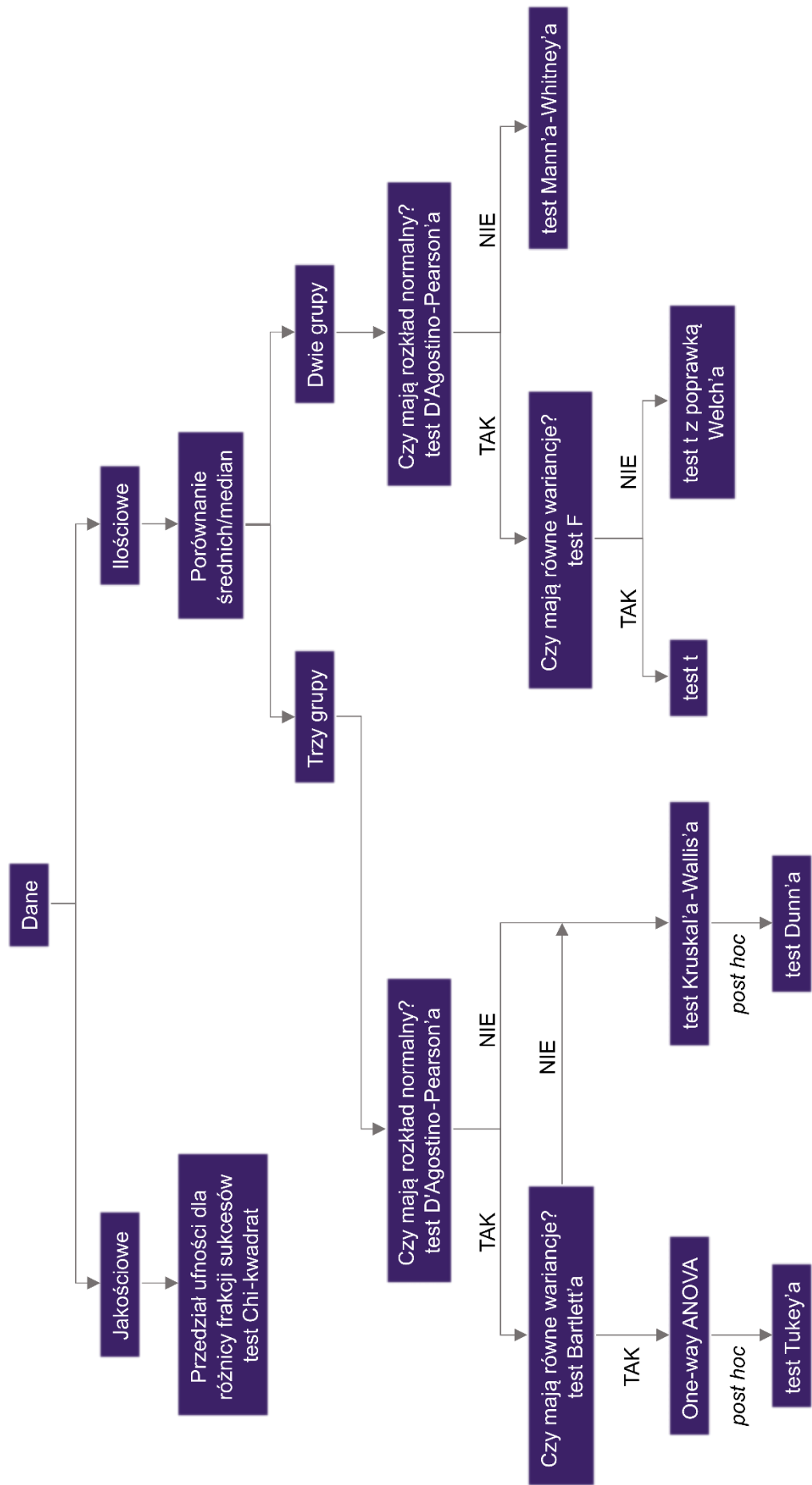
3.8. Analiza statystyczna

Wyniki przedstawiono jako średnie arytmetyczne z błędem standardowym średniej. Liczebności grup w opisach rycin uwzględniają liczbę zarejestrowanych komórek i zwierząt w schemacie: liczba komórek (liczba myszy).

W pracy przyjęto algorytm testowania statystycznego przedstawiony na ryc. 3.18. Wykonywano testy dwustronne z poziomem istotności $\alpha=0,05$. Analizę statystyczną wykonano używając programu GraphPad Prism 8.0.2 (GraphPad Software, Stany Zjednoczone), z wyjątkiem testowania przedziału ufności dla różnicy frakcji sukcesów, które wykonano w programie R 4.1.2. (R Foundation for Statistical Computing, Austria).

„Gwiazdki” na wykresach odpowiadają następującym wartościom p: $p \leq 0,05$ (*), $p \leq 0,01$ (**), $p \leq 0,001$ (***), $p \leq 0,0001$ (****).

Wartości przekraczające trzykrotną wartość odchylenia standardowego z próby były wykluczane z dalszej analizy. Nie usuwano więcej niż 10% wszystkich wyników w grupie myszy.



Ryc. 3.18. Algorytm testowania statystycznego przyjęty w niniejszej pracy.

4. Wyniki

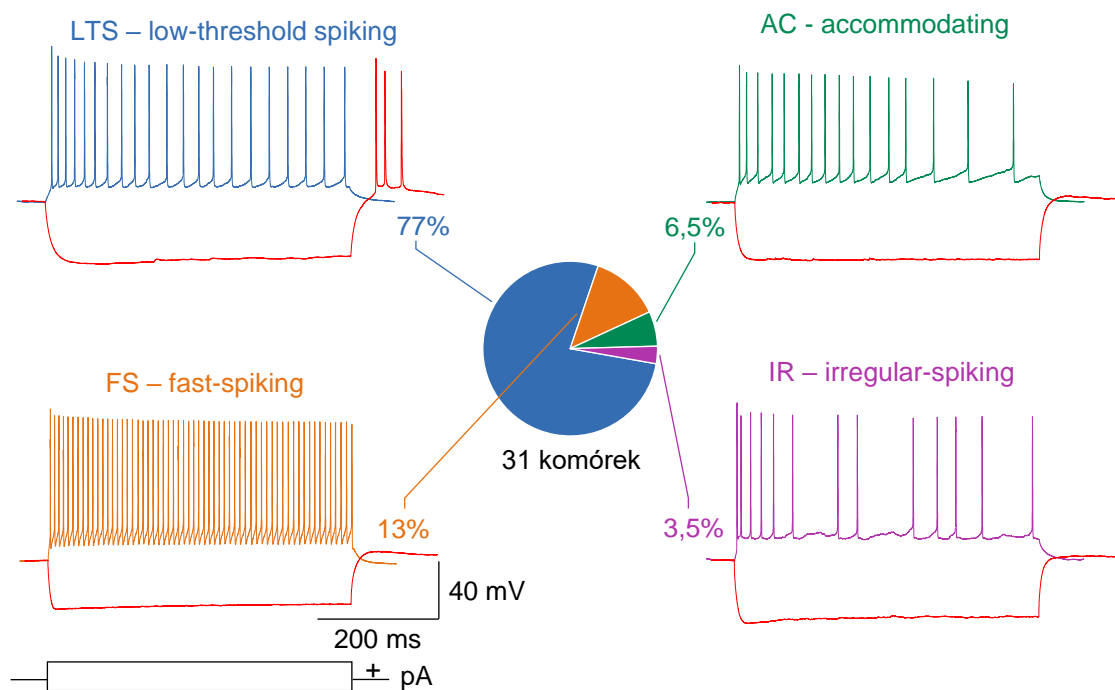
W prezentowanej pracy skupiono się na zmianach plastycznych wywołanych uczeniem w obrębie trzech typów komórek GABAergicznymi, w prostym modelu warunkowania asocjacyjnego lub po pseudowarunkowaniu u dorosłych myszy. Rozdział „Wyniki” obejmuje trzy podrozdziały, każdy poświęcony innej populacji komórek GABAergicznymi w IV warstwie kory baryłkowej myszy: Int-SOM, Int-PV i Int-VIP. Z kolei każdy z podrozdziałów dedykowany poszczególnej grupie interneuronów składa się z części poświęconej analizie elektrofizjologicznej interneuronów w grupie Naiwnej, a następnie analizie wyników dotyczących wpływu warunkowania i pseudowarunkowania na własności elektrofizjologiczne, takie jak: (1) podstawowe parametry elektrofizjologiczne, (2) pobudliwość własna, (3) parametry kształtów potencjałów czynnościowych, (4) aktywność spontaniczna, (5) sEPSCs oraz (6) optogenetycznie wywołane IPSCs.

4.1.1. Charakterystyka populacji Int-SOM w IV warstwie kory baryłkowej myszy

Wszystkie zbadane Int-SOM pochodziły z IV warstwy kory baryłkowej myszy. W pierwszym etapie zanalizowano Int-SOM pochodzące z myszy niepoddanych manipulacji (grupy Naiwnej). Komórki testowano pod względem podstawowych parametrów błony (potencjał spoczynkowy i opór wejściowy) oraz pod względem wzoru wyładowań w odpowiedzi na podawany bodziec prądowy i obecności potencjału „rykoszetowego”. Występowanie potencjałów „rykoszetowych” często uważane jest za niezbędne kryterium, aby dany Int-SOM zaklasyfikować do grupy komórek z wyładowaniem typu LTS (J. H. Goldberg i in., 2004). W niniejszej pracy również przyjęto powyższą zasadę i klasyfikowano neurony jako wykazujące wzór wyładowań typu LTS tylko w przypadku, gdy demonstrowały one wyładowania „rykoszetowe”.

Spośród 31 zbadanych komórek, które pochodziły z 16 zwierząt grupy Naiwnej, 24 zaklasyfikowano jako LTS (77% nagranych komórek), 4 jako FS (13%), 2 jako AC, posiadające wzór z akomodacją wyładowań bez „rykoszetu” (6,5%) i 1 jako IR, cechującą się nieregularnymi wyładowaniami (3,5 %) (ryc. 4.1.). Z uwagi na fakt, że Int-SOM o wzorze LTS stanowiły dominującą klasę komórek zarejestrowanych w IV warstwie kory baryłkowej, a ich pobudliwość różniła się od pobudliwości komórek o innych typach wyładowań, dalszą analizę przeprowadzono tylko na komórkach LTS i nazwano je w skrócie Int-SOM-LTS.

Wzory wyładowań Int-SOM w IV warstwie kory baryłkowej



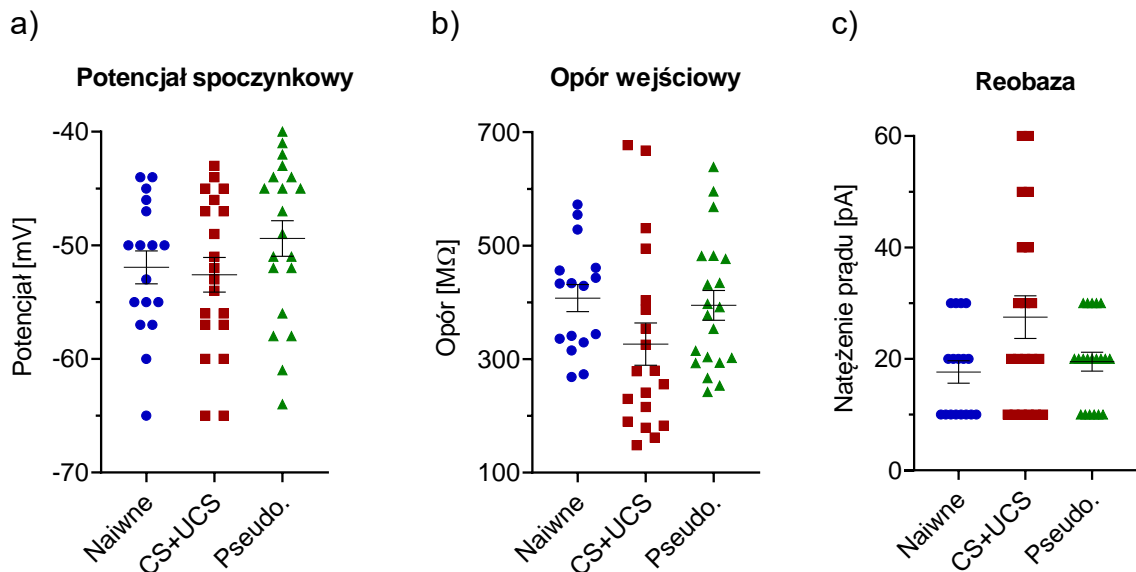
Ryc. 4.1. Udział procentowy Int-SOM w IV warstwie kory baryłkowej myszy ze względu na wzór wyładowań. Na rycinie przedstawiono cztery wzory wyładowań zarejestrowane z Int-SOM w grupie Naiwnej; $n=31(16)$. Tylko Int-SOM-LTS wyładowują się po ustaniu wywołanej, silnej hiperpolaryzacji – *rebound spiking* (czerwony zapis). Prostokąt w lewym dolnym rogu ryciny odzwierciedla prostokątne pulsy dodatniego i ujemnego prądu.

4.1.2. Brak zmian w podstawowych parametrach elektrofizjologicznych Int-SOM-LTS

Prezentowane wyniki uzyskano z 3 grup myszy: poddanych warunkowaniu klasycznemu (grupa CS+UCS), pseudowarunkowaniu (grupa Pseudo.) lub nie poddanych manipulacji (grupa Naiwna).

Analiza podstawowych parametrów elektrofizjologicznych Int-SOM-LTS pokazała, że komórki charakteryzują się podobnymi wartościami potencjału spoczynkowego błony we wszystkich badanych grupach myszy ($p=0,2866$) (ryc. 4.2.a). Średni potencjał spoczynkowy interneuronów wynosił (mV): $-51,94 \pm 1,4$ u myszy Naiwnych; $-52,6 \pm 1,5$ u myszy CS+UCS i $-49,4 \pm 1,6$ u myszy Pseudo. Podobnie analiza oporu wejściowego błony badanych komórek nie wykazała żadnych różnic między grupami zwierząt ($p=0,1376$) (ryc. 4.2.b). Średni opór wejściowy wynosił ($M\Omega$): $407,5 \pm 23,9$ w grupie Naiwnej; $326,5 \pm 37,4$ w grupie CS+UCS i $394,8 \pm 26,2$ w grupy Pseudo. Również analiza reobazy Int-SOM-LTS nie wykazała rozbieżności pomiędzy trzema grupami myszy ($p=0,1899$) (ryc. 4.2.c). Średnie minimalne natężenie prądu

potrzebne do wywołania AP wynosiło (pA): $17,65 \pm 2,0$ w grupie myszy Naiwnych; $27,50 \pm 3,8$ w CS+UCS i $19,5 \pm 1,7$ w Pseudo.

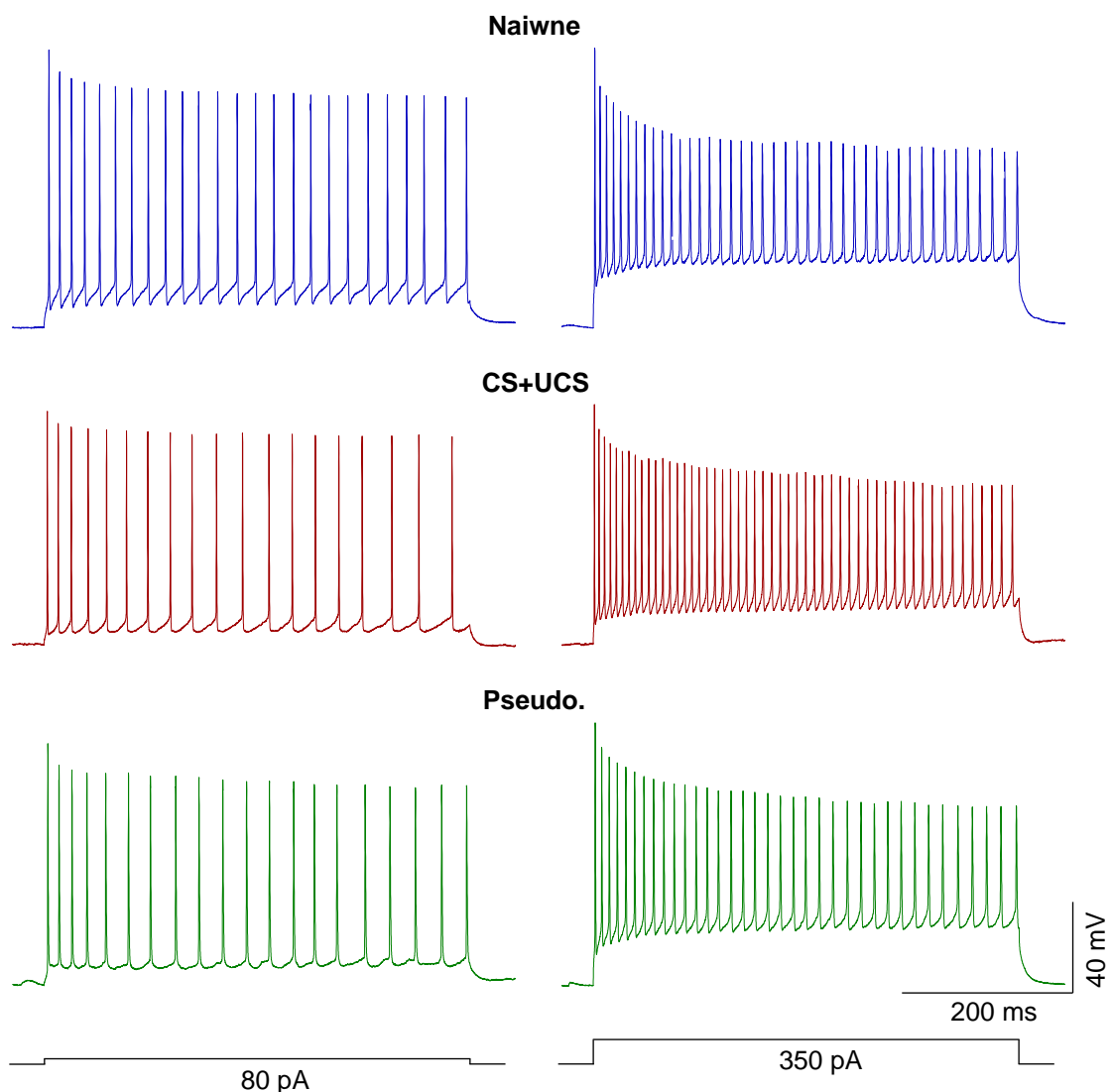


Ryc. 4.2. Podstawowe parametry Int-SOM-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Nie zaobserwowano różnicy w: (a) potencjale spoczynkowym błony pomiędzy grupami (One-way ANOVA, $F_{(2, 54)}=1,279$, $p=0,2866$), (b) oporze wejściowym (One-way ANOVA, $F_{(2, 52)}=2,061$, $p=0,1376$), (c) reobazie (test Kruskal’a-Wallis’a, $p=0,1899$). (a, c) Naiwne=17(7), CS+UCS=20(10), Pseudo.=20(6). (b) Naiwne=16(7), CS+UCS=19(10), Pseudo.=20(6).

4.1.3. Wpływ uczenia na pobudliwość własną Int-SOM-LTS

Zmiany w synapsach i związane z tym LTP i LTD są obecnie głównym kierunkiem badań nad plastycznością wywołaną uczeniem. Oprócz plastyczności synaptycznej wywołanej doświadczeniem i formowaniem się pamięci zachodzą również inne formy plastyczności, jak np. zmiany w pobudliwość własnej neuronów. W różnych formach uczenia, począwszy od tworzenia pozytywnej asocjacji między nagrodą a bodźcem ze środowiska (Motanis i in., 2014; Whitaker i in., 2017), poprzez awersyjne warunkowanie klasyczne (McKay i in., 2013) i warunkowanie strachu (Dunn i in., 2018; Motanis i in., 2014; Sehgal i in., 2014), a skończywszy na warunkowaniu awersji do konkretnego rodzaju pożywienia (Levitan i in., 2020), dochodzi do znaczących zmian w pobudliwość własnej neuronów. Przyczyną tych zmian są prawdopodobnie modyfikacje w liczbie, kompozycji i strukturze kanałów jonowych (McKay i in., 2013; W. Zhang i Linden, 2003). W dalszej konsekwencji modyfikacje pobudliwości własnej mogą prowadzić do zmian w przekazywaniu synaptycznym i aktywności lokalnej sieci neuronalnej. Wcześniejsze badania na wykorzystywanym w niniejszej pracy modelu wykazały wzrost pobudliwości neuronów pobudzających IV warstwy kory baryłkowej po warunkowaniu

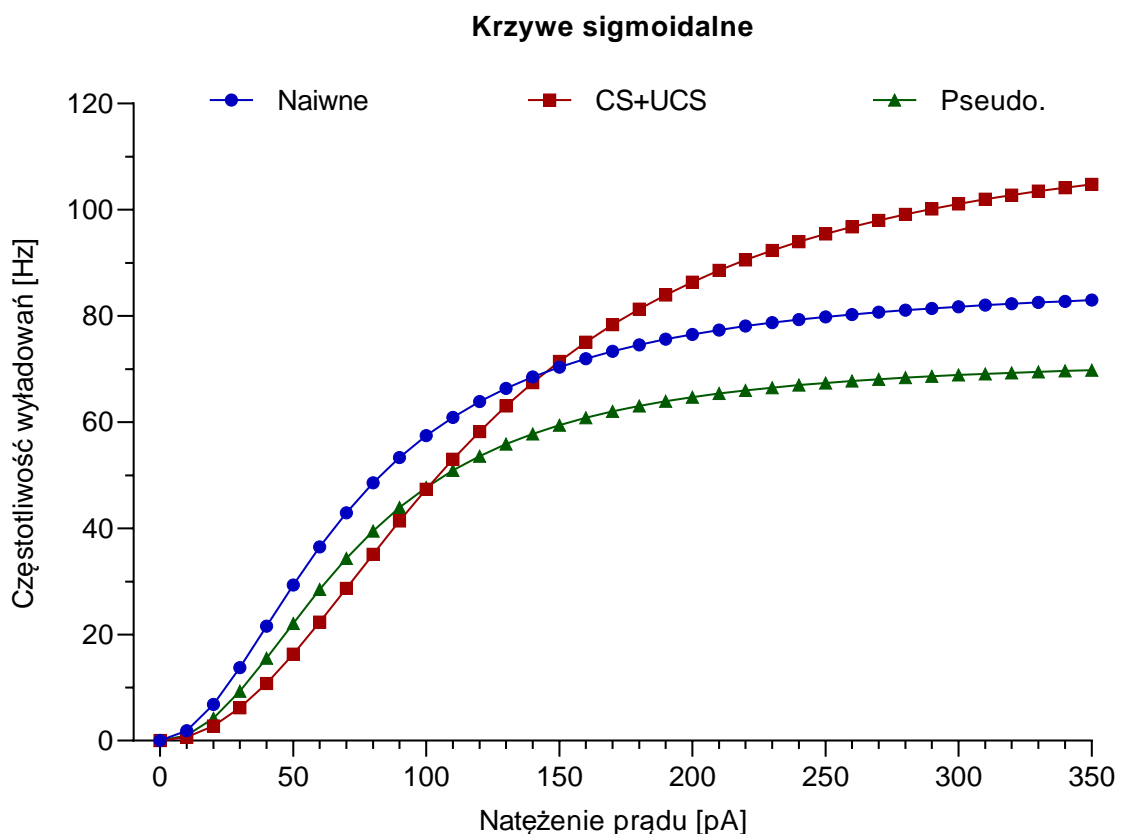
zwierząt (Bekisz i in., 2010). Aby zbadać, czy uczenie powoduje również zmiany plastyczne korowych Int-SOM, poddano analizie pobudliwość własną Int-SOM-LTS trzech grup zwierząt. Analiza statystyczna obejmowała porównanie parametrów krzywych sigmoidalnych między grupami. Parametr „a” odzwierciedlający maksymalną częstotliwość wyładowań komórek podczas dokomórkowej stymulacji depolaryzującym bodźcem prądowym był większy w grupie CS+UCS w porównaniu z grupą Naiwną ($p=0,0272$) oraz Pseudo. ($p<0,0001$) (ryc. 4.3., 4.4., 4.5.a). Średnie wartości dla parametru „a” wynosiły (Hz): $86,7 \pm 5,5$ w grupie Naiwnej; $116,0 \pm 7,2$ w CS+UCS i $72,3 \pm 3,4$ w Pseudo. Kolejne dwa parametry krzywych: „b” i „c” opisują dynamikę



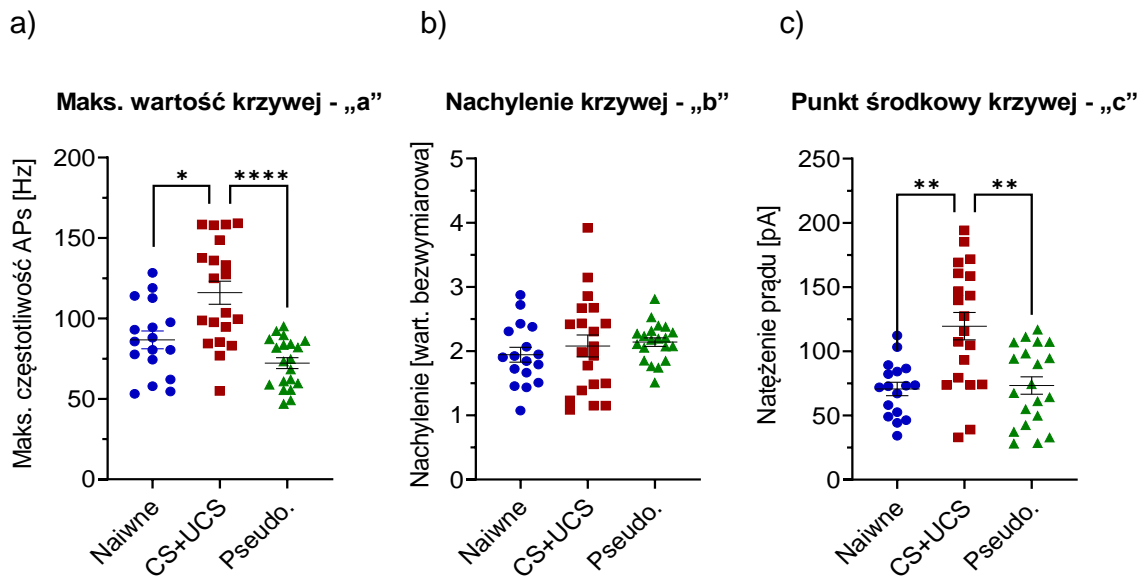
Ryc. 4.3. Przykłady wyładowań Int-SOM-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Lewa część ryciny przedstawia wyładowania Int-SOM-LTS wywołane przez prostokątny bodziec prądowy o natężeniu 80 pA. Prawa część prezentuje wyładowania wywołane bodźcem o natężeniu 350 pA, przy którym widoczna jest wyższa częstotliwość wyładowań komórki pochodzącej z grupy CS+UCS w porównaniu do komórek dwóch pozostałych grup.

pobudliwości własnej zbadanych komórek. Parametr „b” charakteryzuje nachylenie krzywej, im jest on niższy tym krzywa jest bardziej stroma, a komórki dynamiczniej odpowiadają APs na wzrastające natężenie zadanego prądu. Analizując nachylenia krzywych sigmoidalnych pobudliwości własnej pochodzących z różnych grup zwierząt nie odnotowano znaczących różnic ($p=0,4258$) (ryc. 4.5.b). Średni parametr „b” wynosił (wart. bezwymiarowa): $1,94 \pm 0,116$ u zwierząt Naiwnych; $2,08 \pm 0,170$ u CS+UCS i $2,14 \pm 0,067$ u Pseudo. Parametr „c” wskazuje wartość prądu, przy którym komórki odpowiadają z połową maksymalnej częstotliwości wyładowań. Wartości parametru „c” były większe w grupie CS+UCS w odniesieniu do grupy Naiwnej ($p=0,0028$), a także Pseudo. ($p=0,0071$) (ryc. 4.5.c). Średnie wartości parametru „c” wynosiły (pA): $70,7 \pm 5,2$ w grupie Naiwnej; $119,6 \pm 10,6$ w CS+UCS i $73,3 \pm 6,8$ w Pseudo.

Uzyskane wyniki wskazują, że pobudliwość własna Int-SOM jest większa u myszy warunkowanych w porównaniu z myszami kontrolnymi (naiwnymi) i pseudowarunkowanymi.



Ryc. 4.4. Uśrednione krzywe sigmoidalne pobudliwości własnej dla Int-SOM-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Krzywe zostały wyrysowane na podstawie następującej liczby komórek i zwierząt: Naiwne=17(7), CS+UCS=20(10), Pseudo.=20(6).



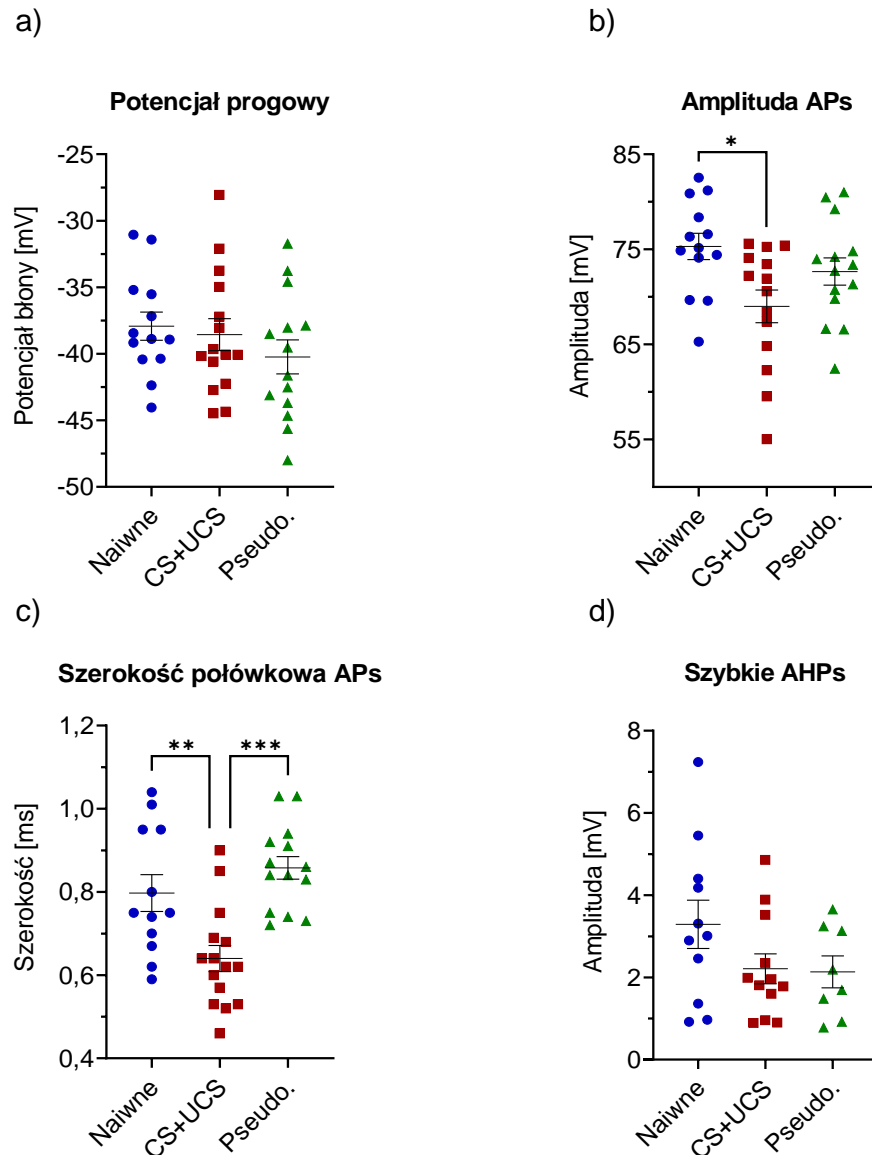
Ryc. 4.5. Parametry krzywych sigmoidalnych pobudliwości własnej dla Int-SOM-LTS w IV warstwie kory barylkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Parametr „a” był większy w grupie CS+UCS niż w grupie Naiwnej (test Kruskal’a-Wallis’a, $p < 0,0001$; test Dunn’a, $p = 0,0272$) oraz w grupie Pseudo. (test Dunn’a, $p < 0,0001$). **(b)** Nie stwierdzono różnic w parametrze „b” krzywych pomiędzy grupami (test Kruskal’a-Wallis’a, $p = 0,4258$). **(c)** Parametr „c” był wyższy w grupie CS+UCS w porównaniu z grupą Naiwną (test Kruskal’a-Wallis’a, $p = 0,0011$; test Dunn’a, $p = 0,0028$) oraz Pseudo. (test Dunn’a, $p = 0,0071$). **(a-c)** Naiwne=17(7), CS+UCS=20(10), Pseudo.=20(6).

4.1.4. Wpływ uczenia na parametry kształtu potencjałów czynnościowych Int-SOM-LTS

Dalsze badania skupiły się na analizie parametrów APs Int-SOM pochodzących z badanych grup zwierząt. Analiza ta miała za zadanie wykryć, jakie parametry APs mogą być związane ze wzrostem pobudliwości własnej w grupie CS+UCS. To pozwoliłoby dochodzić molekularnych mechanizmów plastyczności w badanym modelu, gdyż różne parametry APs zależą od liczby i rodzaju kanałów oraz podjednostek je budujących (Sehgal i in., 2013).

Analizowano kształt drugiego AP przy maksymalnej częstotliwości wyładowań (materiały i metody, rozdz. 3.5.3., str. 62.). Nie stwierdzono różnic w wartościach potencjału progowego dla APs między grupami myszy ($p = 0,3826$) (ryc. 4.6.a). Średnie wartości potencjału progowego wynosiły (mV): $-37,92 \pm 1,06$ w grupie Naiwnej; $-38,56 \pm 1,20$ w UCS i $-40,24 \pm 1,28$ w Pseudo. Natomiast amplituda APs okazała się być mniejsza w grupie CS+UCS niż Naiwnej ($p = 0,0167$) (ryc. 4.6.b). Średnie amplitud APs mierzyły (mV): $75,31 \pm 1,38$ w grupie Naiwnej; $69,01 \pm 1,72$ w CS+UCS i $72,66 \pm 1,43$ w Pseudo. Wykryto także, że szerokość połówkowa APs była mniejsza w grupie CS+UCS w porównaniu do szerokości połówkowej grupy Naiwnej ($p = 0,0069$) i Pseudo.

($p=0,0001$) (ryc. 4.6.c). Średnie dla szerokości połówkowych APs mierzyły (ms): $0,798 \pm 0,044$ w grupie Naiwnej; $0,640 \pm 0,031$ w CS+UCS i $0,858 \pm 0,027$ w Pseudo. Nie zanotowano różnic w amplitudzie AHPs między badanymi grupami ($p=0,1641$) (ryc. 4.6.d). Średnie amplitud szybkie AHPs wynosiły (mV): $3,29 \pm 0,59$ w grupie Naiwnej; $2,21 \pm 0,36$ w CS+UCS i $2,14 \pm 0,39$ w Pseudo.

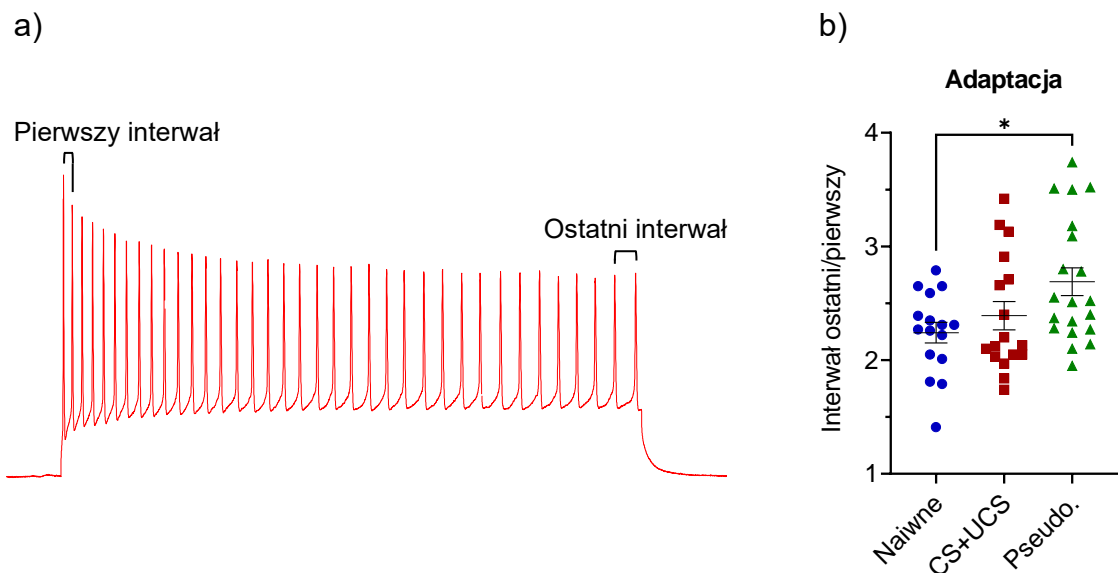


Ryc. 4.6. Parametry potencjałów czynnościowych przy maksymalnej częstotliwości wyladowań dla Int-SOM-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Potencjał progowy nie różnił się między grupami (One-way ANOVA, $F_{(2, 39)}=0,9847$, $p=0,3826$); Naiwne=13(5), CS+UCS=15(10), Pseudo.=14(6). **(b)** Amplituda APs była niższa w grupie CS+UCS w stosunku do grupy Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2, 38)}=4,253$, $p=0,0215$; test Tukey'a, $p=0,0167$); Naiwne=13(5), CS+UCS=14(10), Pseudo.=14(6). **(c)** Szerokość połówkowa APs w grupie CS+UCS była mniejsza w porównaniu z grupą Naiwną (One-way ANOVA, $F_{(2, 38)}=11,62$, $p=0,0001$; test Tukey'a, $p=0,0069$) i Pseudo. (test Tukey'a, $p=0,0001$); Naiwne=12(5), CS+UCS=15(10), Pseudo.=14(6). **(d)** Nie zaobserwowano różnic w amplitudach szybkie AHPs między grupami badanych komórek (One-way ANOVA, $F_{(2, 28)}=1,929$, $p=0,1641$); Naiwne=11(4), CS+UCS=12(10), Pseudo.=8(5).

Podsumowując, amplituda i szerokość połówkowa APs były mniejsze w Int-SOM u myszy warunkowanych w porównaniu do naiwnych i pseudowarunkowanych.

W kolejnym kroku zanalizowano interwały między APs w odpowiedziach neuronów przy maksymalnej częstotliwości wyładowań. Interwały są odwrotnością częstotliwości, a ich analiza pozwala na sprawdzenie, czy w badanych komórkach dochodzi do zjawiska akomodacji, inaczej adaptacji częstotliwości wyładowań (Ha i Cheong, 2017). Adaptacja częstotliwości wyładowań często związana jest z uczeniem i nabywaniem nowych śladów pamięciowych (Reuveni i Barkai, 2018). Co więcej, poziom adaptacji wpływa na częstotliwość, a także wzór wyładowań neuronu, co ma istotny wpływ na filtrowanie i synchronizację informacji docierających do komórki (Ha i in., 2016). Poziom adaptacji i jej charakter związany jest z liczbą i rodzajem kanałów oraz ze spadkiem lub wzrostem pobudliwości komórek. Tak więc analiza adaptacji i AHPs, od których ta adaptacja zależy, może wskazać jakie prądy/kanały zmieniły się po uczeniu w grupie myszy CS+UCS, u których w Int-SOM-LTS zaobserwowano zwiększoną pobudliwość własną.

Analiza stosunku ostatniego interwału względem pierwszego interwału w serii wyładowań wykazała, że adaptacja w grupie Pseudo. osiągnęła wyższe wartości w porównaniu z grupą Naiwną ($p=0,0225$) (ryc. 4.7.b). Średnie wartości w grupach



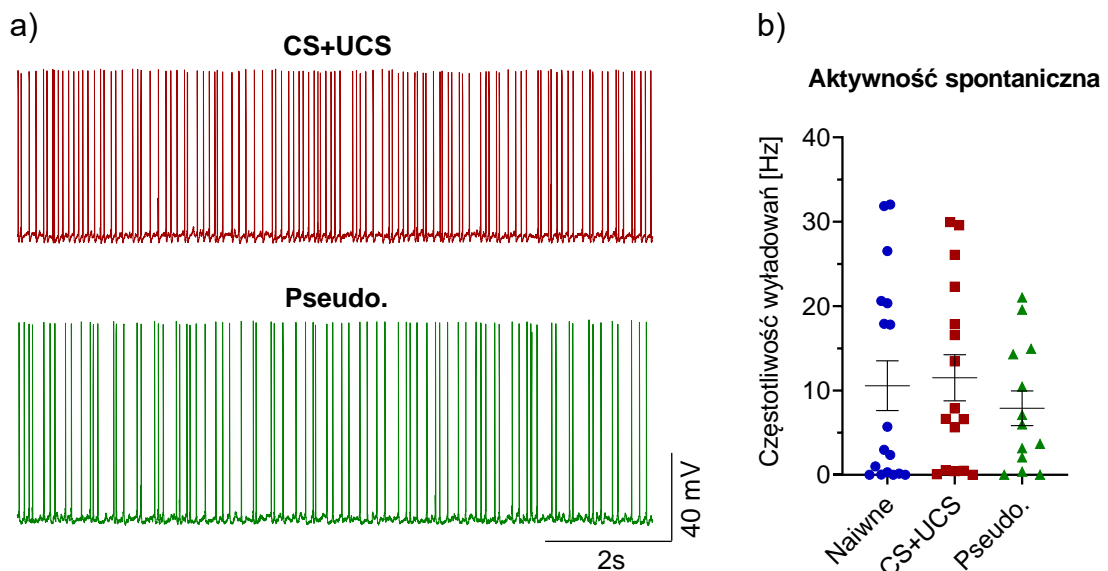
Ryc. 4.7. Adaptacja przy maksymalnej częstotliwości wyładowań dla Int-SOM-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Schemat obrazujący wyładowania z zaznaczonymi interwałami między APs. **(b)** Adaptacja wyładowań w grupie Pseudo. była większa niż w grupie Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2, 50)}=4,002$, $p=0,0244$; test Tukey'a, $p=0,0225$). Naiwne=16(6), CS+UCS=17(10), Pseudo.=20(6).

wynosiły (wart. bezwymiarowa): $2,24 \pm 0,09$ w Naiwnej; $2,39 \pm 0,12$ w CS+UCS i $2,69 \pm 0,12$ w Pseudo.

Powyższe wyniki dowodzą, że warunkowanie u myszy prowadzi do wzrostu pobudliwości własnej Int-SOM-LTS IV warstwy kory baryłkowej w reprezentacji wibrys stymulowanych podczas procedury uczenia. Zwiększenie pobudliwości tych komórek może wynikać z zaobserwowanego zmniejszenia szerokości połówkowej APs. Dodatkowo zwiększona adaptacja wyładowań neuronów w grupie Pseudo., pomimo braku różnic w parametrach krzywej sigmoidalnej, wskazuje na zmiany w sposobie wyładowywania się komórek tej grupy zwierząt.

4.1.5. Brak zmian w aktywności spontanicznej Int-SOM-LTS

Podczas doświadczeń elektrofizjologicznych nagrywano aktywność spontaniczną Int-SOM-LTS, aby sprawdzić czy zmiany wywołane uczeniem w pobudliwości własnej tych komórek będą miały odzwierciedlenie w zmianie ich aktywności spontanicznej. Po przeprowadzonej analizie okazało się jednak, że wzrost pobudliwości własnej Int-SOM, jaki obserwowano w grupie CS+UCS, nie miał wpływu na aktywność spontaniczną komórek tej grupy myszy, gdyż nie zanotowano różnic w częstotliwości spontanicznie pojawiających się APs między interneuronami trzech badanych grup



Ryc. 4.8. Aktywność spontaniczna Int-SOM-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Przykładowe aktywności spontaniczne komórek znajdujących się najbliżej średniej populacyjnej dla grupy. Nie przedstawiono aktywności spontanicznej dla grupy Naiwnej z uwagi na brak w próbie elementów w zakresie błędu standardowego średniej. **(b)** Nie zaobserwowano różnic w aktywności spontanicznej interneuronów pomiędzy badanymi grupami (One-way ANOVA, $F_{(2, 43)}=0,4396$, $p=0,6472$). Naiwne=17(7), CS+UCS=16(9), Pseudo.=13(5).

zwierząt ($p=0,6472$) (ryc. 4.8.). Średnia aktywność komórek równała się (Hz): $10,57 \pm 2,95$ w grupie Naiwnej; $11,51 \pm 2,73$ w CS+UCS i $7,89 \pm 2,06$ w Pseudo.

Wyniki wskazują, że zwiększenie pobudliwości własnej Int-SOM-LTS nie miało znaczącego wpływu na aktywność spontaniczną tych komórek.

4.1.6. Wpływ uczenia na pobudzające przekaźnictwo synaptyczne dochodzące do Int-SOM-LTS

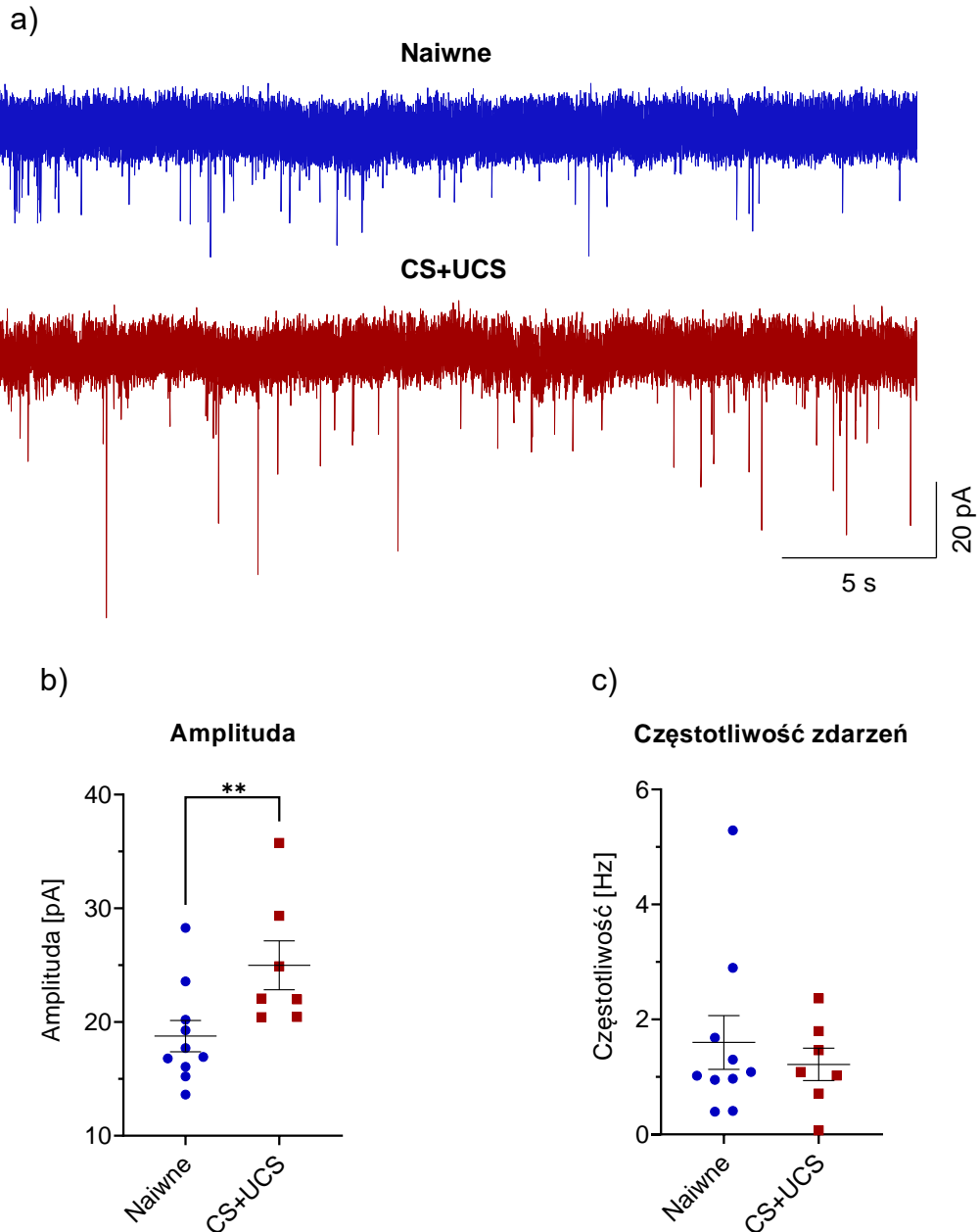
W kolejnym etapie badań przeprowadzono pomiary sEPSCs w Int-SOM-LTS, aby sprawdzić czy proste formy uczenia wpływają na sieć pobudzającą unerwiającą te interneurony, a także aby sprawdzić, czy zmianom pobudliwości własnej towarzyszą również modyfikacje na poziomie synaptycznym. Często bowiem zmianom plastycznym na poziomie pobudliwości własnej towarzyszą zmiany w synapsach (Sehgal i in., 2013).

Analizowano cztery wybrane parametry opisujące sEPSCs: amplitudę, częstotliwość zdarzeń, czas narastania i czas zaniku odpowiedzi. Przeprowadzone pomiary sEPSCs ujawniły wyższą amplitudę odpowiedzi EPSC w Int-SOM-LTS grupy CS+UCS niż Naiwnej ($p=0,0097$) (ryc. 4.9.a, b). Średnie amplitudy w grupach wynosiły (pA): $18,77 \pm 1,377$ w Naiwnej i $25,00 \pm 2,15$ w CS+UCS. Nie zanotowano jednak różnic w częstotliwościach występowania sEPSCs pomiędzy grupami ($p>0,9999$) (ryc. 4.9.a, c). Średnie wartości częstotliwości sEPSCs wyniosły (Hz): $1,60 \pm 0,47$ w grupie Naiwnej i $1,22 \pm 0,28$ w CS+UCS. Pomiary ujawniły natomiast krótszy czas narastania rejestrowanych prądów w grupie CS+UCS niż Naiwnej. ($p=0,0031$) (ryc. 4.10.a, b). Średnie wartości tego czasu wyniosły w grupach (ms): $1,426 \pm 0,055$ w Naiwnej i $1,133 \pm 0,050$ w CS+UCS. Także czas zaniku sEPSCs okazał się krótszy w grupie CS+UCS niż Naiwnej ($p=0,0007$) (ryc. 4.10.a, c). Czas zaniku powyższych prądów prezentował następujące wartości średnie wewnątrz grup (ms): $5,689 \pm 0,172$ w Naiwnej i $4,725 \pm 0,181$ w CS+UCS.

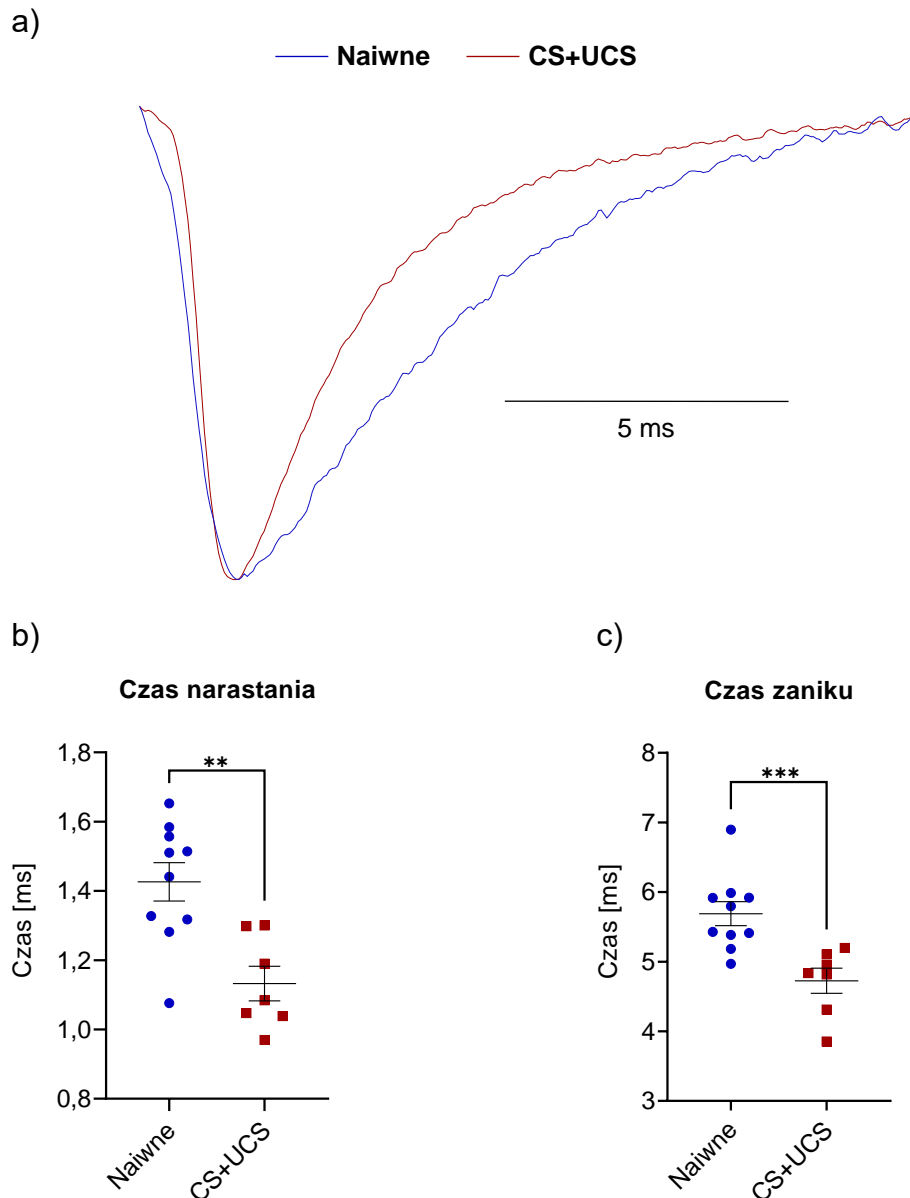
Pomiary i analizę statystyczną sEPSCs przeprowadzono tylko w grupie Naiwnej i CS+UCS z uwagi na to, że analiza pobudliwości własnej Int-SOM-LTS nie wykazała różnic dotyczących grupy Pseudo.

Otrzymane wyniki pokazują, że warunkowanie skutkowało nie tylko wzrostem pobudliwości Int-SOM-LTS, ale także zmianami plastycznymi pobudzających połączeń synaptycznych unerwiających te interneurony. Zwiększenie amplitudy sEPSCs może wskazywać na wzmocnienie pobudzenia Int-SOM-LTS przez sieć neuronów pobudzających, a skrócenie czasu narastania i zaniku tych prądów na zwiększenie

precyzji tego pobudzenia. Możliwe, że za obserwowane różnice odpowiedzialne są zmiany w składzie podjednostkowym receptorów AMPA i/lub NMDA prowadzące do różnic w kinetyce tych kanałów.



Ryc. 4.9. Amplituda i częstotliwość sEPSCs w Int-SOM-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla grupy Naiwnej i CS+UCS. (a) Przykładowe fragmenty rejestracji sEPSCs. **(b)** Analiza statystyczna wykazała wyższą amplitudę sEPSCs w grupie CS+UCS w porównaniu z grupą Naiwną ($p=0,0097$). **(c)** Z kolei częstotliwość sEPSCs nie przedstawiała różnic pomiędzy grupami ($p>0,9999$). **(b, c)** Test Mann'a-Whitney'a; Naiwne=10(5), CS+UCS=7(5).

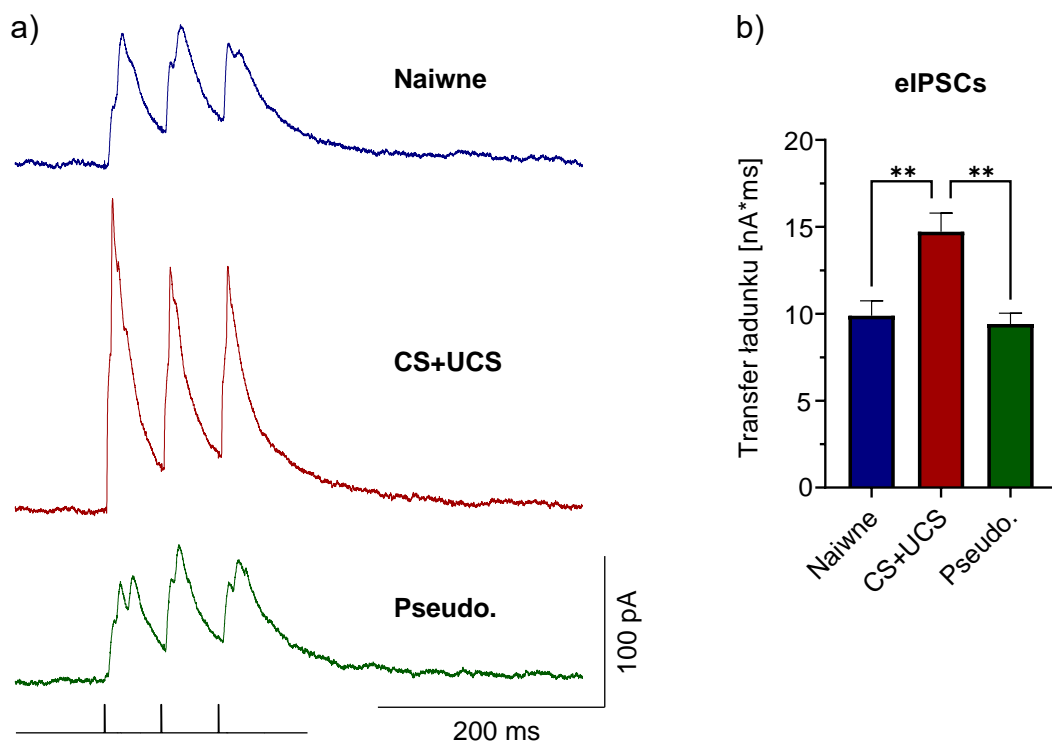


Ryc. 4.10. Kinetyka sEPSCs w Int-SOM-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla grupy Naiwnej i CS+UCS. (a) Otrzymane z pojedynczych komórek przykłady uśrednionych sEPSCs znormalizowane pod względem amplitudy. Liczba zdarzeń: Naiwne=373, CS+UCS=270. **(b)** Czas narastania sEPSCs był krótszy w grupie CS+UCS niż Naiwnej ($p=0,0031$). **(c)** Czas zaniku sEPSCs był szybszy w grupie myszy CS+UCS niż Naiwnych ($p=0,0007$). **(b, c)** Test Mann'a-Whitney'a; Naiwne=10(5), CS+UCS=7(5).

4.1.7. Wpływ uczenia na hamowanie neuronów pobudzających IV warstwy przez Int-SOM

Wcześniejsze badania na modelu uczenia stosowanym w niniejszej pracy wykazały wzrost hamowania neuronów pobudzających IV warstwy kory baryłkowej w wyniku warunkowania zwierząt (Tokarski i in., 2007). Z tego powodu postanowiono sprawdzić, która klasa interneuronów GABAergicznycy może być odpowiedzialna za powyższy wzrost hamowania komórek glutaminianergicznycy po warunkowaniu. Aby sprawdzić,

czy zastosowane formy uczenia powodują trwałe zmiany hamowania komórek pobudzających w IV warstwie kory baryłkowej przez Int-SOM, przeprowadzono doświadczenia elektrofizjologiczne na skrawkach mózgowych otrzymanych z myszy transgenicznym eksprymujących ChR2 tylko w Int-SOM. Neurony pobudzające wybierano na podstawie wzoru wyładowań charakteryzującego się regularnymi wyładowaniami z występowaniem akomodacji (materiały i metody, rozdz. 3.6.1., str. 66.). Int-SOM aktywowano poprzez dostarczenie trzech pulsów niebieskiego światła (czas trwania pojedynczego pulsu wynosił 0,5 ms) w 50 ms odstępach czasu (ryc. 4.11.a). Przeprowadzone pomiary wykazały większy transfer ładunku eIPSCs w neuronach pobudzających grupy CS+UCS w relacji do transferu ładunku w grupie Naiwnej ($p=0,0019$), a także w grupie Pseudo. ($p=0,0011$) (ryc. 4.11.b). Średnia wartość transferu ładunku eIPSCs wynosiła ($nA \cdot ms$): $9,882 \pm 0,869$ w grupie Naiwnej; $14,719 \pm 1,076$ w CS+UCS i $9,408 \pm 0,622$ w Pseudo.



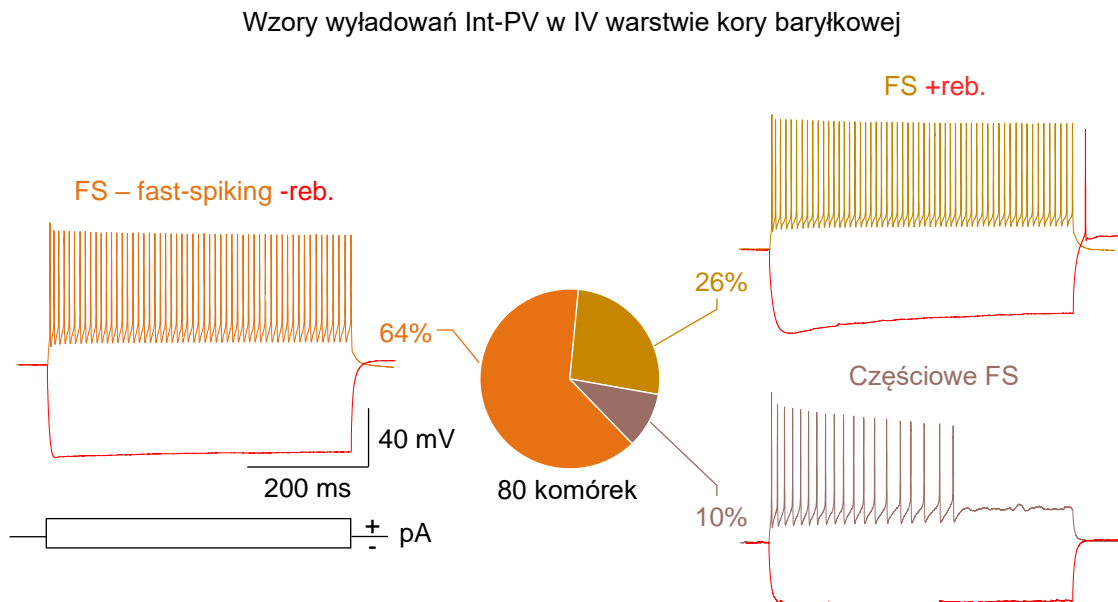
Ryc. 4.11. Transfer ładunku hamowania (eIPSCs) pochodzącego od Int-SOM zarejestrowany w neuronach pobudzających IV warstwy kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Uśrednione zapisy (12 powtórzeń) eIPSCs otrzymane z pojedynczych neuronów będących najbliższej średniej populacyjnej transferu ładunku dla grupy. Na dole przedstawiono trzy 0,5 ms pulsy niebieskiego światła aktywujące ChR2 w Int-SOM. **(b)** Transfer ładunku eIPSCs był większy w neuronach pobudzających pochodzących ze zwierząt grupy CS+UCS w porównaniu z komórkami pobudzającymi grupy Naiwnej (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,0003$; test Dunn'a, $p=0,0019$) oraz Pseudo. (test Dunn'a, $p=0,0011$). Naiwne=53(20), CS+UCS=53(15), Pseudo.=56(16).

Analiza ta dowodzi, że w wyniku warunkowania dochodzi do zwiększonego hamowania komórek glutaminianergicznym IV warstwy przez Int-SOM. Za intensyfikację hamowania komórek glutaminianergicznym może być częściowo lub w całości odpowiedzialny wzrost pobudliwości własnej Int-SOM-LTS.

4.2.1. Charakterystyka populacji Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej myszy

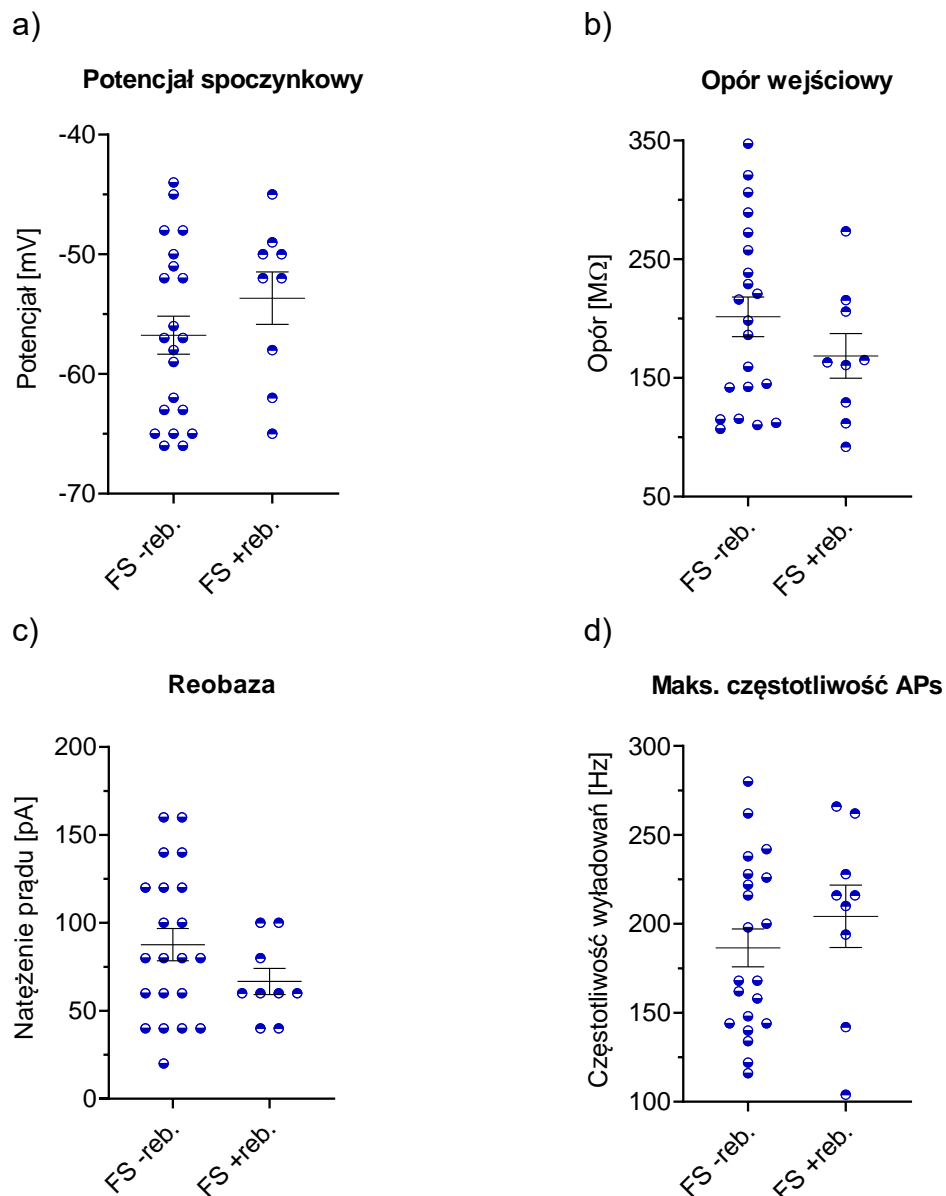
W kolejnej części badań scharakteryzowano interneurony PV pod względem ich własności elektrofizjologicznych u zwierząt kontrolnych (naiwnych), a następnie zbadano, czy warunkowanie lub pseudowarunkowanie wpłynęły na te własności. Analiza wzorów wyładowań Int-PV oraz obecności tzw. *rebound spikes* pozwoliły wyodrębnić trzy różne typy odpowiedzi: FS bez wyładowań *rebound spikes* (FS -reb.), FS z wyładowaniami *rebound spikes* (FS +reb.) oraz komórki wyładowujące się częściowo, które zostały nazwane częściowymi FS (ryc. 4.12.). W grupie zwierząt naiwnych (n=27) zarejestrowano aktywność 80 Int-PV, w tym zaobserwowano 51 komórek o typie FS -reb. (64 %), 21 o typie FS +reb. (26%) i 8 komórek będących częściowymi FS (10%).

Ze względu na powyższy rozkład procentowy komórek w populacji Int-PV zdecydowano się sprawdzić, czy dwa typy komórek PV-FS, które różnicował brak lub obecność wyładowań typu *rebound spikes*, są ponadto heterogenne w odniesieniu do



Ryc. 4.12. Udział procentowy Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej myszy ze względu na wzór wyładowań. Na rycinie przedstawiono trzy rodzaje zarejestrowanych Int-PV w grupie zwierząt Naiwnych; n=80(27). Czerwone zapisy przedstawiają obecność wyładowań typu *rebound spikes* lub ich brak. Prostokąt w lewej części ryciny odzwierciedla prostokątne pulsy dodatniego i ujemnego prądu.

innych własności elektrofizjologicznych. W tym celu porównano obydwie typy komórek pod względem następujących parametrów: potencjału spoczynkowego, oporu wejściowego błony, reobazy i maksymalnej częstotliwości z jaką się wyładowują w odpowiedzi na wewnątrzkomórkową stymulację dodatnim prądem. Analiza nie wykazała istotnych różnic między dwiema grupami komórek pod względem potencjałów spoczynkowych ($p=0,2078$), których średnie wynosiły (mV): $-57,3 \pm 1,5$ w grupie FS -reb. i $-53,7 \pm 2,2$ w FS +reb. (ryc. 4.13.a). Obydwie grupy interneuronów były zarazem

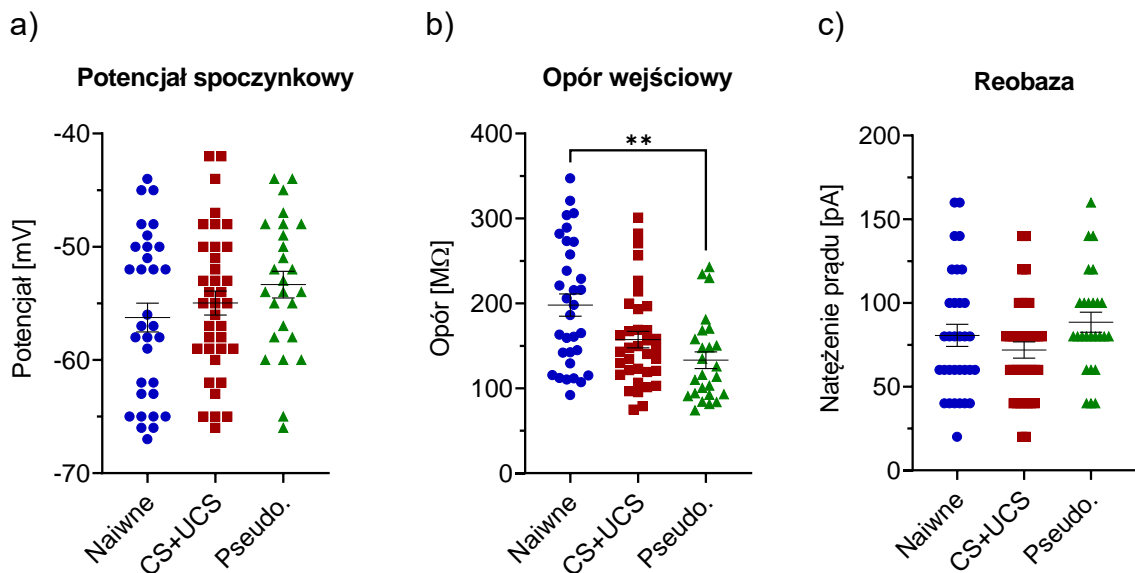


Ryc. 4.13. Podstawowe parametry dwóch typów Int-PV-FS w IV warstwie kory baryłkowej myszy kontrolnych: interneuronów z wyładowaniami typu rebound (+reb.) i bez tych wyładowań (-reb.). Brak różnic w: (a) potencjale spoczynkowym między interneuronami FS z wyładowaniami „rykoszetowymi” (+reb.) i bez wyładowań „rykoszetowych” (-reb.) ($p=0,2078$), (b) oporze wejściowym ($p=0,1623$), (c) reobazie ($p=0,1881$), (d) maksymalnej częstotliwości wywołanych APs ($p=0,3275$). (a-d) Niesparowany t-test; FS -reb.=23(10), FS +reb.=9(7).

podobne pod względem oporu wejściowego ($p=0,1623$), średnie wartości tego parametru wynosiły ($M\Omega$): $209,5 \pm 16,2$ w grupie FS -reb. i $168,6 \pm 18,8$ w FS +reb. (ryc. 4.13.b). Obie populacje komórek były również homogenne w odniesieniu do reobazy ($p=0,1881$), której średnie równały się (pA): $86,1 \pm 8,5$ w grupie FS -reb. i $66,7 \pm 7,5$ w grupie FS +reb. (ryc. 4.13.c). Ponadto grupy te były nierozróżnialne odnośnie maksymalnej częstotliwości wyładowań ($p=0,3275$) (ryc. 4.13.d). Średnie tego parametru wynosiły (Hz): $185,3 \pm 9,7$ w FS -reb. oraz $204,2 \pm 17,5$ w FS +reb. Z uwagi na brak różnic między interneuronami FS -reb. a FS +reb. we wszystkich czterech testowanych parametrach elektrofizjologicznych u zwierząt kontrolnych uznano za zasadne połączenie tych dwóch klas komórek w dalszej analizie. Natomiast Int-PV z wyładowaniami pojawiającymi się tylko na początku bodźca prądowego (częściowe FS) wykluczono z dalszej analizy ze względu na znacznie mniejszą pobudliwość.

4.2.2. Wpływ uczenia na podstawowe parametry elektrofizjologiczne Int-PV

Na wstępie porównano podstawowe własności elektrofizjologiczne pomiędzy Int-PV pochodzącymi od zwierząt naiwnych, warunkowanych i pseudowarunkowanych. Ocena potencjałów spoczynkowych nie pozwoliła na stwierdzenie różnic między badanymi grupami zwierząt ($p=0,2991$) (ryc. 4.14.a). Średnie wartości potencjału



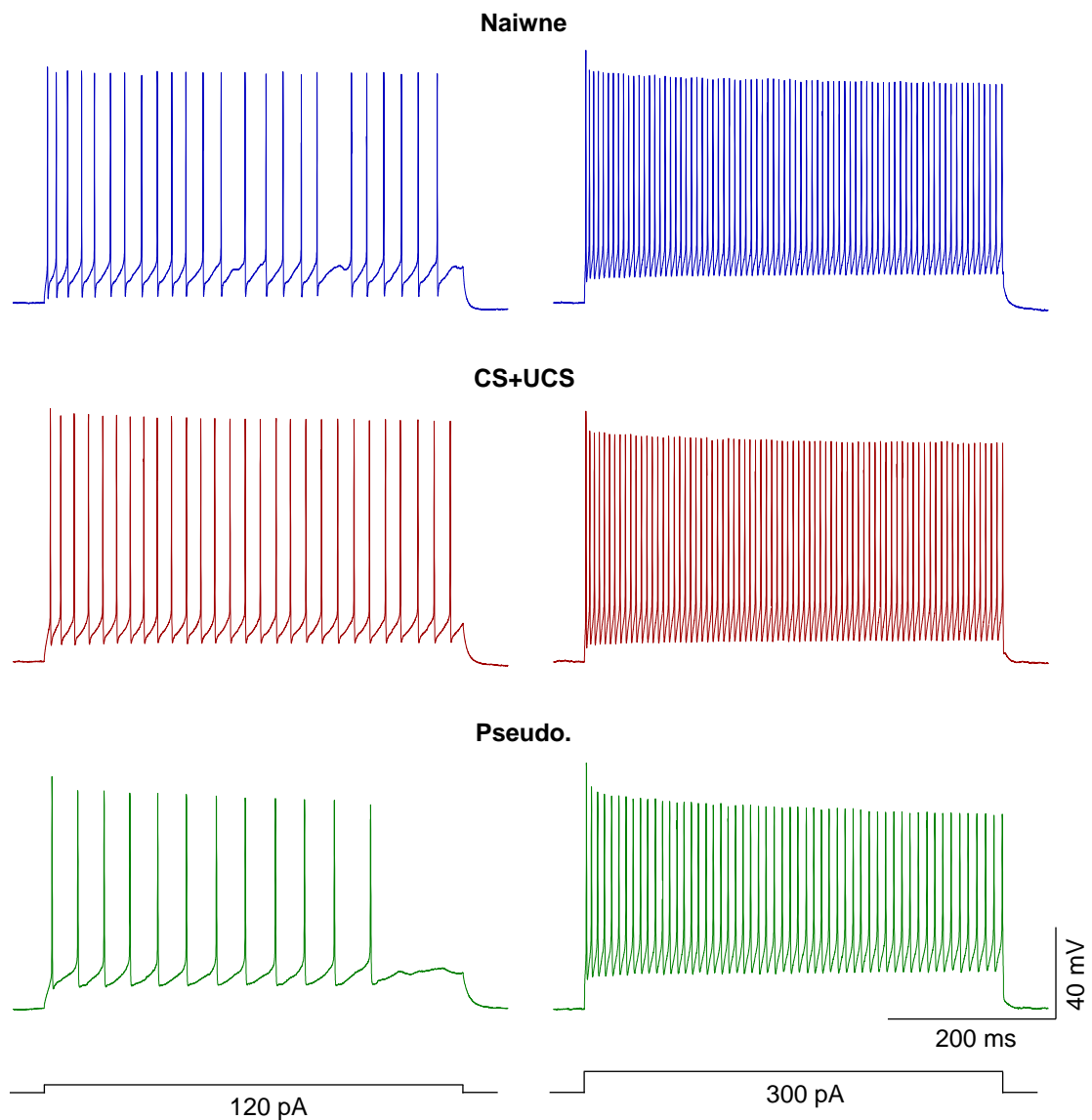
Ryc. 4.14. Podstawowe parametry Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Potencjał spoczynkowy błony Int-PV nie różnił się pomiędzy poszczególnymi grupami (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,2991$). (b) Int-PV w grupie Pseudo. wykazywały znacznie niższy opór wejściowy w stosunku do komórek grupy Naiwnej (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,0017$; test Dunn'a, $p=0,0012$). (c) Średnie wartości reobazy nie różniły się między grupami (One-way ANOVA, $F_{(2,92)}=2,010$, $p=0,1398$). (a, c) Naiwne=32(14), CS+UCS=37(12), Pseudo.=26(10). (b) Naiwne=32(14), CS+UCS=35(12), Pseudo.=25(10).

spoczynkowego wynosiły (mV): $-56,3 \pm 1,3$ w grupie Naiwnej; $-55,0 \pm 1,1$ w CS+UCS i $-53,4 \pm 1,2$ w Pseudo. Natomiast pomiar oporu wejściowego błony komórkowej wykazał niższe wartości tego parametru w Int-PV grupy Pseudo. w porównaniu z komórkami grupy Naiwnej ($p=0,0012$) (ryc. 4.14.b). Średnie wartości oporów wejściowych błon komórkowych prezentowały się następująco ($M\Omega$): $198,0 \pm 13,1$ w grupie Naiwnej; $157,3 \pm 9,6$ w CS+UCS i $133,0 \pm 9,9$ w Pseudo. Z kolei wartości reobazy były podobne dla wszystkich trzech grup ($p=0,1398$), jej średnie wynosiły (pA): $80,6 \pm 6,6$ w grupie Naiwnej; $71,9 \pm 4,9$ w CS+UCS i $88,5 \pm 6,0$ w Pseudo. (ryc. 4.14.c).

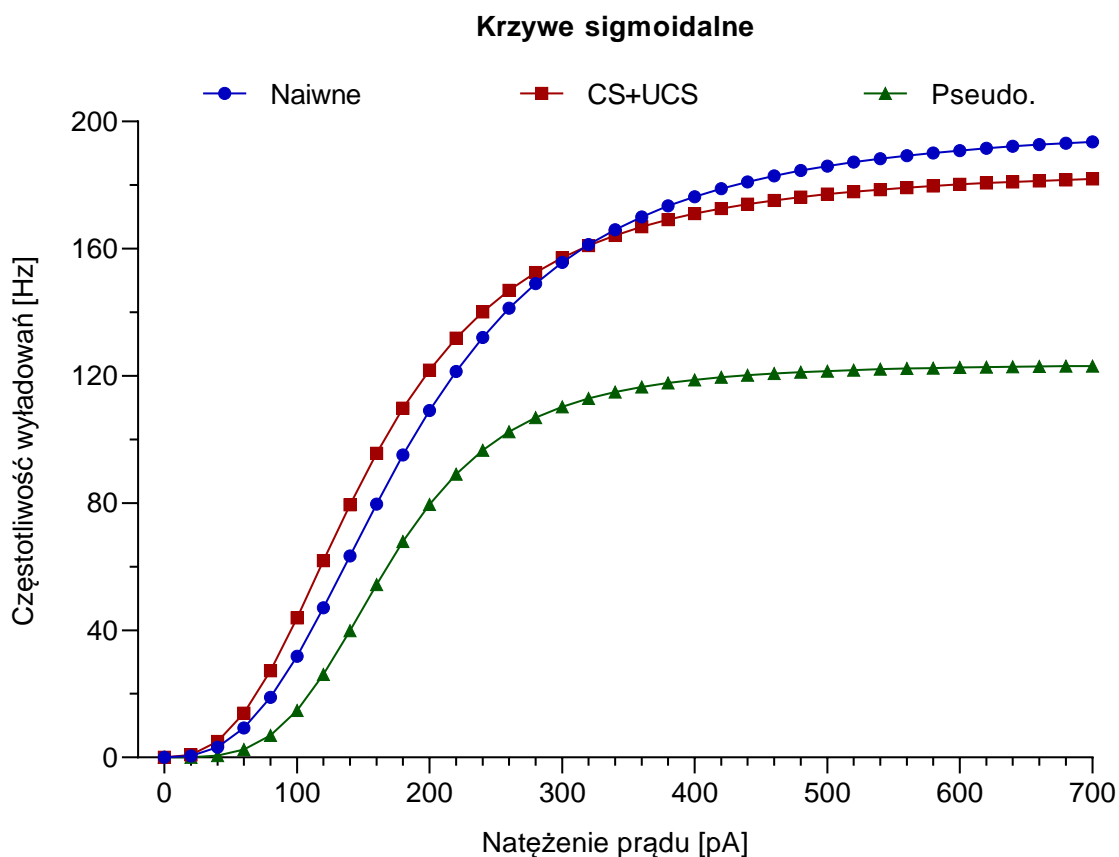
4.2.3. Wpływ uczenia na pobudliwość własną Int-PV

W celu zbadania, czy uczenie powoduje zmiany plastyczne korowych Int-PV zbadano pobudliwość własną tych komórek. Porównania statystyczne maksymalnych wartości (parametr „a”) krzywych sigmoidalnych między grupami Int-PV pokazały, że komórki grupy Pseudo. mają znacznie niższą maksymalną częstotliwość wyładowań w relacji do interneuronów grupy Naiwnej ($p<0,0001$) oraz grupy CS+UCS ($p<0,0001$) (ryc. 4.15, 4.16, 4.17.a). Średnia parametru „a” wynosiła (Hz): $199,3 \pm 9,8$ w grupie Naiwnej; $185,5 \pm 8,9$ w CS+UCS i $123,8 \pm 6,8$ w Pseudo. Dodatkowo odmienna częstotliwość wyładowań interneuronów trzech badanych grup myszy widoczna jest przy natężeniu prądu liczącym 120 pA, wskazując na możliwe różnice w nachyleniach krzywych (ryc. 4.15., 4.16.). Rzeczywiście, parametr „b” charakteryzujący nachylenie krzywych sigmoidalnych osiągał znacznie wyższe wartości w grupie Pseudo. niż Naiwnej ($p=0,0001$) i CS+UCS ($p<0,0001$) (ryc. 4.17.b). Średnie parametru „b” wynosiły (wart. bezwymiarowa): $2,67 \pm 0,17$ w grupie Naiwnej; $2,63 \pm 0,14$ w CS+UCS i $3,73 \pm 0,22$ w Pseudo. Drugi parametr opisujący dynamikę pobudliwości własnej rejestrowanych komórek, parametr „c” określający punkt środkowy krzywej był podobny we wszystkich grupach ($p=0,1470$) i mierzył (pA): $186,3 \pm 13,3$ w grupie Naiwnej; $156,2 \pm 8,7$ w CS+UCS oraz $170,8 \pm 11,1$ w Pseudo. (ryc. 4.17.c).

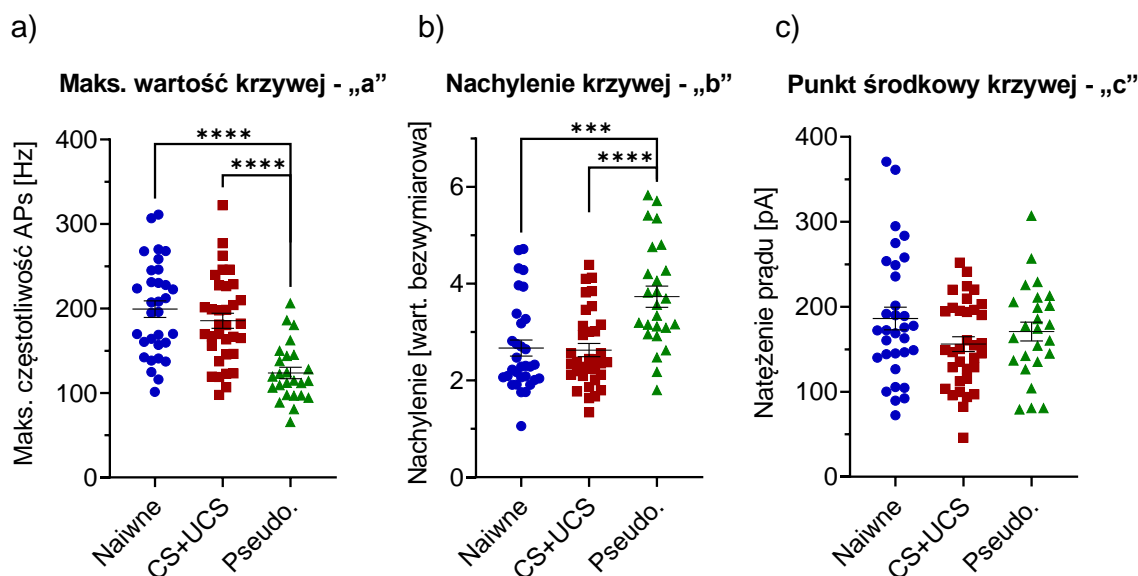
Uzyskane wyniki wskazują, że pseudowarunkowanie powoduje zmniejszenie pobudliwości własnej Int-PV.



Ryc. 4.15. Przykłady wyładowań Int-PV w IV warstwie kory barylkowej dla trzech badanych grup myszy. Lewa część ryciny przedstawia wyładowania Int-PV wywołane przez prostokątny puls prądowy o natężeniu 120 pA. Prawa część prezentuje wyładowania wywołane pulsem o natężeniu 300 pA. Przy obydwu natężeniach prądu zauważalna jest mniejsza częstotliwość wyładowań komórki pochodzącej z grupy Pseudo. w stosunku do komórek dwóch pozostałych grup.



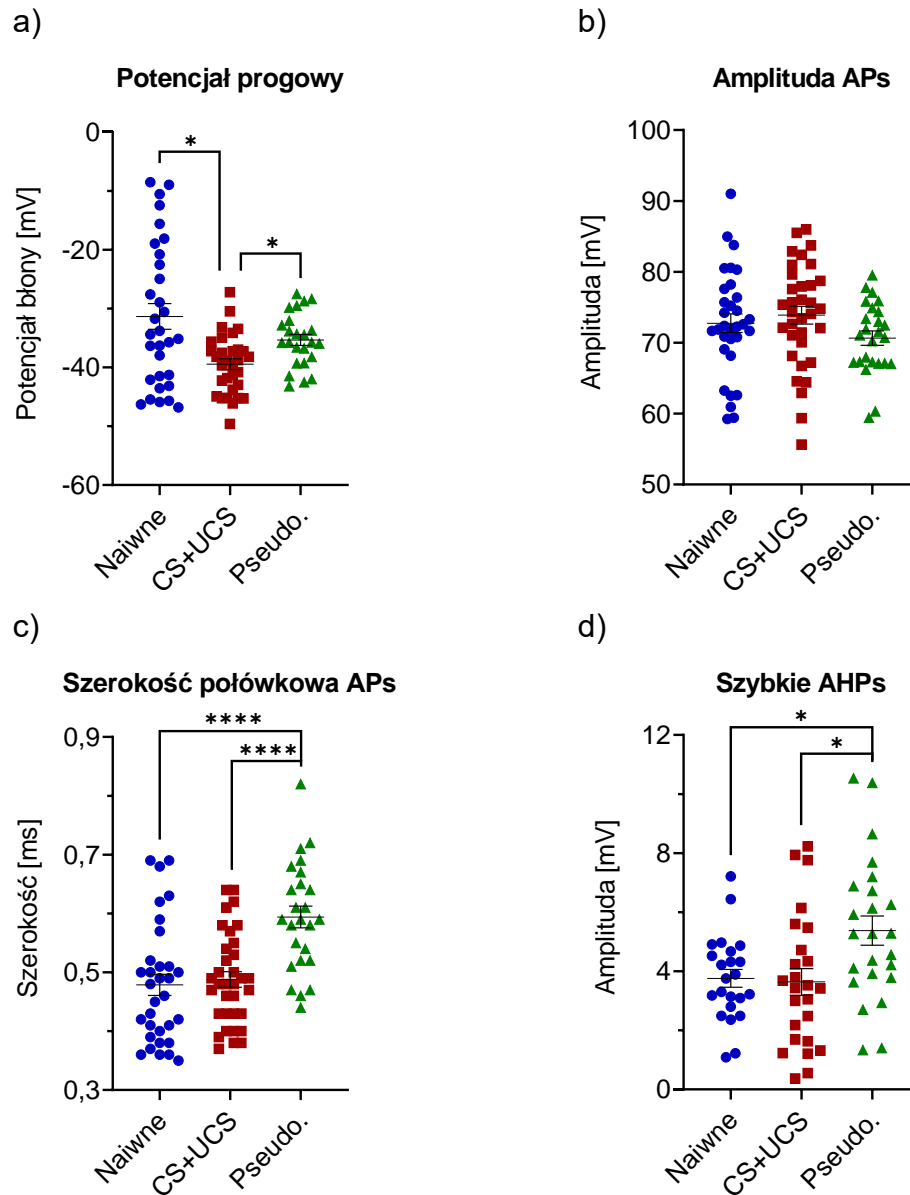
Ryc. 4.16. Uśrednione krzywe sigmoidalne pobudliwości własnej dla Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Krzywe zostały wyrysowane na podstawie następującej liczby komórek i zwierząt: Naiwne=32(14), CS+UCS=34(11), Pseudo.=25(10).



Ryc. 4.17. Parametry krzywych sigmoidalnych pobudliwości własnej dla Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Parametr „a” miał niższą wartość w grupie Pseudo. w stosunku do grupy Naiwnej (test Kruskal’a-Wallis’a, $p < 0,0001$; test Dunn’a, $p < 0,0001$) oraz CS+UCS (test Dunn’a, $p < 0,0001$). (b) Parametr „b” opisujący nachylenie krzywej sigmoidalnej był wyższy w grupie Pseudo. w relacji z grupą Naiwną (One-way ANOVA, $F_{(2, 88)}=12,24$, $p < 0,0001$; test Tukey’a, $p = 0,0001$) i CS+UCS (test Tukey’a, $p < 0,0001$). (c) Nie stwierdzono różnic w parametrze „c” (One-way ANOVA, $F_{(2, 88)}=1,960$, $p = 0,1470$). (a-c) Naiwne=32(14), CS+UCS=34(11), Pseudo.=25(10).

4.2.4. Wpływ uczenia na parametry kształtu potencjałów czynnościowych Int-PV

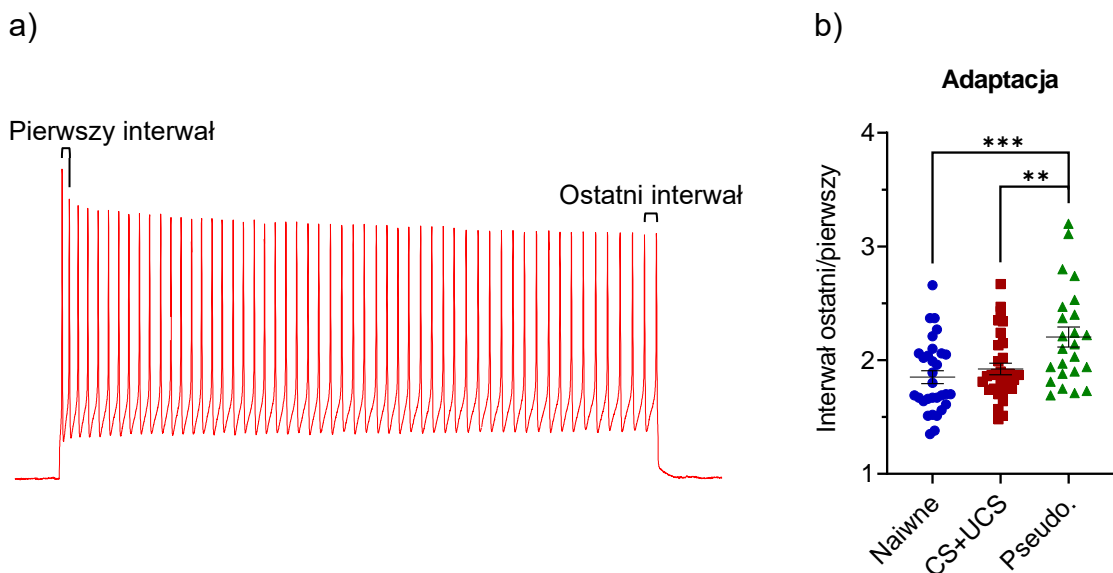
W celu przybliżenia mechanizmu zmniejszenia pobudliwości własnej Int-PV u myszy pseudowarunkowanych zanalizowano kształty APs, tak jak wykonano to dla badań Int-SOM. Analiza parametrów kształtów APs w odpowiedziach Int-PV



Ryc. 4.18. Parametry potencjałów czynnościowych przy maksymalnej częstotliwości wyładowań dla Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Potencjał progowy APs był niższy w grupie CS+UCS niż w grupie Naiwnej (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,0083$; test Dunn'a, $p=0,0137$) i Pseudo. (test Dunn'a, $p=0,0457$). **(b)** Nie stwierdzono różnic w wartościach amplitudy APs (One-way ANOVA, $F_{(2, 88)}=1,638$, $p=0,2003$). **(c)** W grupie Pseudo. szerokość połówkowa APs była znacznie większa względem szerokości odnotowanej w grupie Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2, 88)}=13,49$, $p<0,0001$; test Tukey'a, $p<0,0001$) i CS+UCS (test Tukey'a, $p<0,0001$). **(d)** Amplituda szybkich AHPs była wyższa w grupie Pseudo. w stosunku do grupy Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2, 69)}=5,164$, $p=0,0081$; test Tukey'a, $p=0,0269$) i CS+UCS (test Tukey'a, $p=0,0136$). **(a)** Naiwne=31(14), CS+UCS=31(11), Pseudo.=24(10). **(b, c)** Naiwne=32(14), CS+UCS=34(11), Pseudo.=25(10). **(d)** Naiwne=23(13), CS+UCS=25(10), Pseudo.=24(10).

o maksymalnej częstotliwości wyładowań pokazała, że APs w grupie CS+UCS miały znacznie niższe progi wyładowań względem APs grupy Naiwnej ($p=0,0137$) oraz Pseudo. ($p=0,0457$) (ryc. 4.18.a). Średnie potencjały progowe wynosiły (mV): $-31,34 \pm 2,19$ w grupie Naiwnej; $-39,46 \pm 0,90$ w CS+UCS i $-35,34 \pm 0,93$ w Pseudo. Nie stwierdzono natomiast różnic między amplitudami APs badanych grup komórek ($p=0,2003$) (ryc. 4.18.b). Średnie powyższych amplitud wynosiły (mV): $72,75 \pm 1,32$ w grupie Naiwnej; $73,89 \pm 1,25$ w CS+UCS i $70,65 \pm 1,01$ w Pseudo. Szerokość połówkowa APs w grupie Pseudo. była znacznie większa niż w grupie Naiwnej ($p<0,0001$) oraz CS+UCS ($p<0,0001$) (ryc. 4.18.c). Średnie szerokości połówkowych APs wynosiły (ms): $0,479 \pm 0,018$ w grupie Naiwnej; $0,490 \pm 0,013$ w CS+UCS i $0,594 \pm 0,019$ w Pseudo. Zarazem średnia amplituda szybkich AHPs była większa w grupie Pseudo. w zestawieniu z grupą Naiwną ($p=0,0269$) oraz CS+UCS ($p=0,0136$) (ryc. 4.18.d). Średnie amplitud szybkich AHPs wyniosły (mV): $3,76 \pm 0,30$ w grupie Naiwnej; $3,64 \pm 0,45$ w CS+UCS i $5,38 \pm 0,49$ w Pseudo.

Porównanie stosunku ostatniego interwału względem pierwszego interwału w serii wyładowań wykazało większą adaptację w grupie Pseudo. niż w grupie Naiwnej ($p=0,0008$) i CS+UCS ($p=0,0088$) (ryc. 4.19.b). Średnie wartości adaptacji w grupach wynosiły (wart. bezwymiarowa): $1,85 \pm 0,06$ w Naiwnej; $1,92 \pm 0,05$ w CS+UCS i $2,20 \pm 0,09$ w Pseudo.



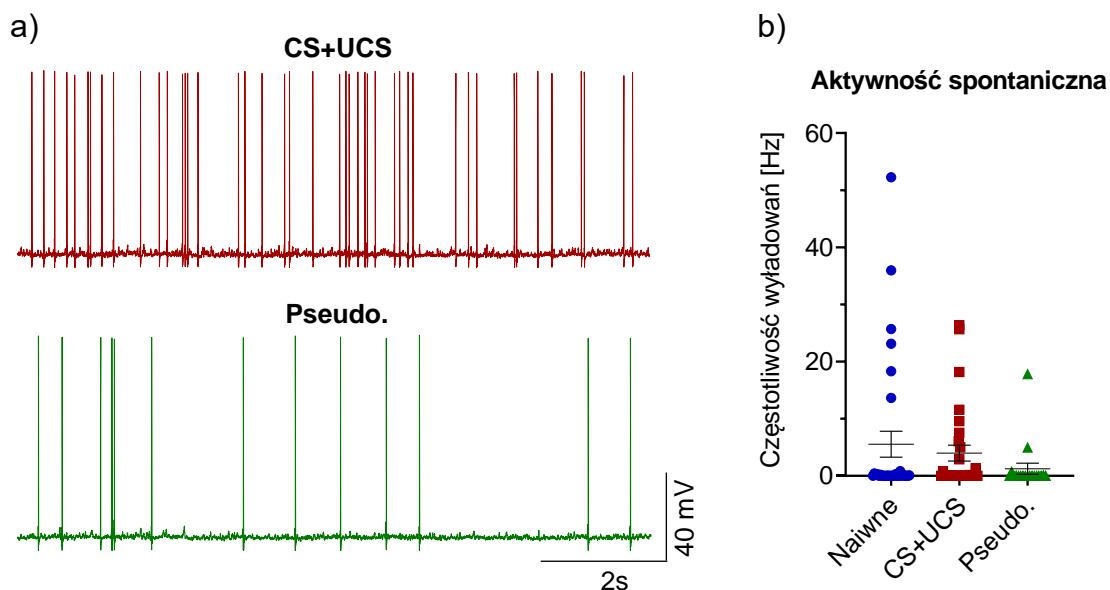
Ryc. 4.19. Adaptacja przy maksymalnej częstotliwości wyładowań dla Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Schemat obrazujący wyładowania z zaznaczonymi interwałami między APs. **(b)** Grupa Pseudo. cechowała się większą adaptacją wyładowań niż grupa Naiwna (One-way ANOVA, $F_{(2, 84)}=7,769$, $p=0,0008$; test Tukey'a, $p=0,0008$) oraz CS+UCS (test Tukey'a, $p=0,0088$). Naiwne=16(6), CS+UCS=17(10), Pseudo.=20(6).

Przeprowadzona analiza pokazuje, że pseudowarunkowanie myszy skutkowało redukcją pobudliwości Int-PV IV warstwy kory baryłkowej. Spadek pobudliwości mógł wynikać z zaobserwowanego zmniejszenia oporu wejściowego, ze znacznego wzrostu szerokości połówkowej APs, podwyższenia amplitudy AHPs oraz ze zwiększonej adaptacji wyładowań.

4.2.5. Brak zmian w aktywności spontanicznej Int-PV

W celu odpowiedzi na pytanie, czy zmniejszenie pobudliwości Int-PV u zwierząt poddanych pseudowarunkowaniu ma wpływ na ogólną aktywność tych komórek, przeprowadzono analizę ich aktywności spontanicznej. Pomiarów te nie wykazały jednak istotnych statystycznie różnic między grupami zwierząt ($p=0,1124$) (ryc. 4.20.). Średnie częstotliwości aktywności spontanicznych wyrażały się w następujący sposób (Hz): $5,54 \pm 2,27$ w grupie Naiwnej; $4,56 \pm 1,47$ w CS+UCS i $1,25 \pm 0,96$ w Pseudo.

Brak zanotowania różnic w aktywności spontanicznej Int-PV grupy Pseudo., pomimo zmniejszenia pobudliwości własnej powyższych komórek, wskazuje na to, że pobudliwość własna nie miała wpływu na ich aktywność spontaniczną.

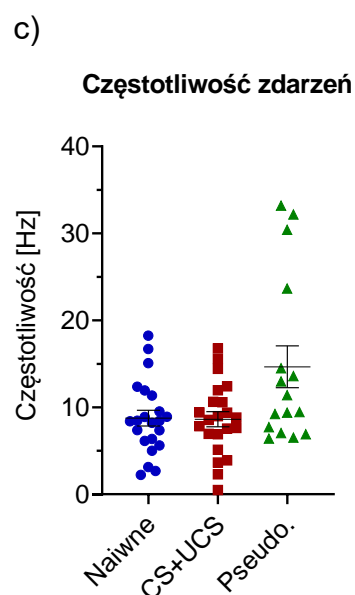
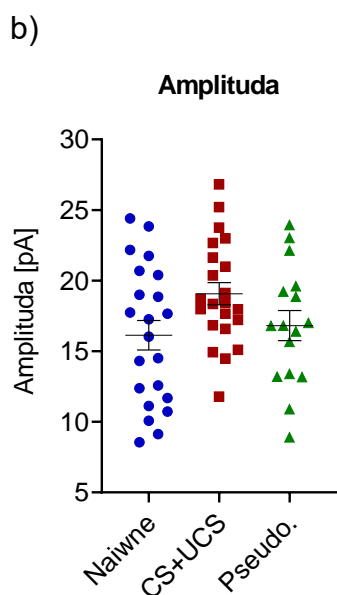
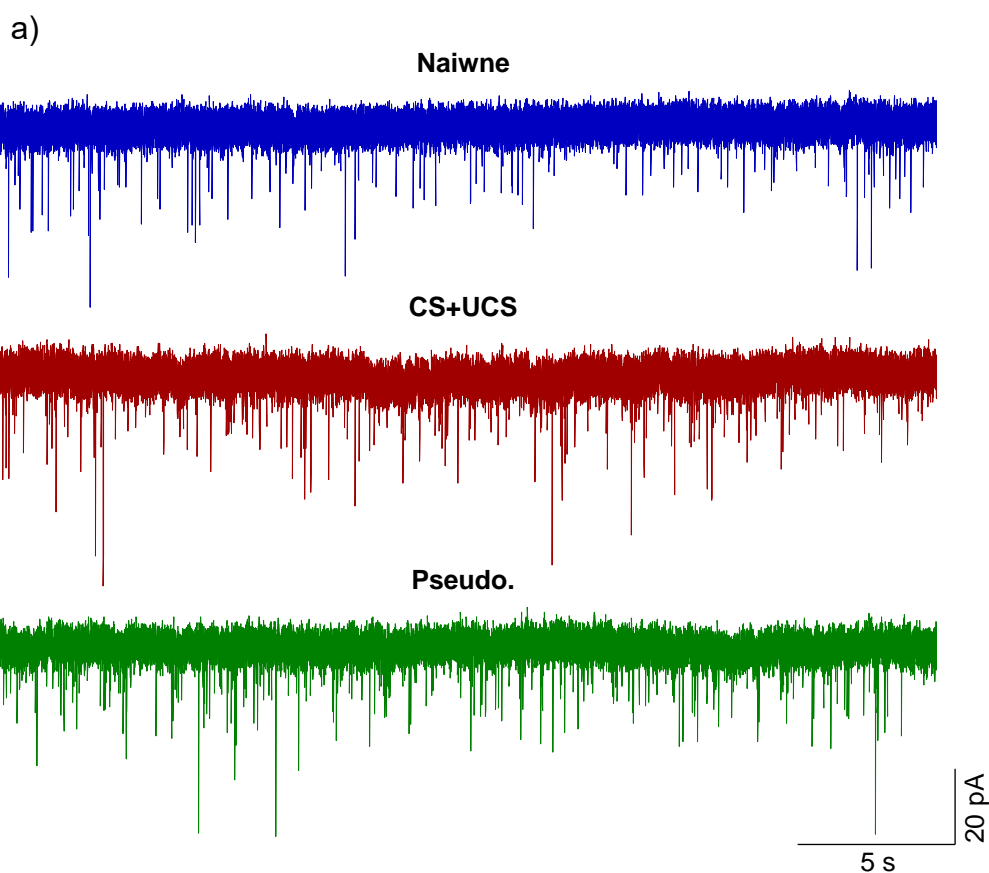


Ryc. 4.20. Aktywność spontaniczna Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Przykładowe aktywności spontaniczne komórek znajdujących się najbliżej średniej populacyjnej dla grupy. Nie przedstawiono aktywności spontanicznej dla grupy Naiwnej z uwagi na brak w próbie elementów w zakresie błędu standardowego średniej – populacja ma rozkład daleki od gaussowskiego. **(b)** Nie stwierdzono różnic w aktywności spontanicznej interneuronów pomiędzy grupami zwierząt (test Kruskal’a-Wallis’a, $p=0,1124$). Naiwne=31(13), CS+UCS=30(11), Pseudo.=19(10).

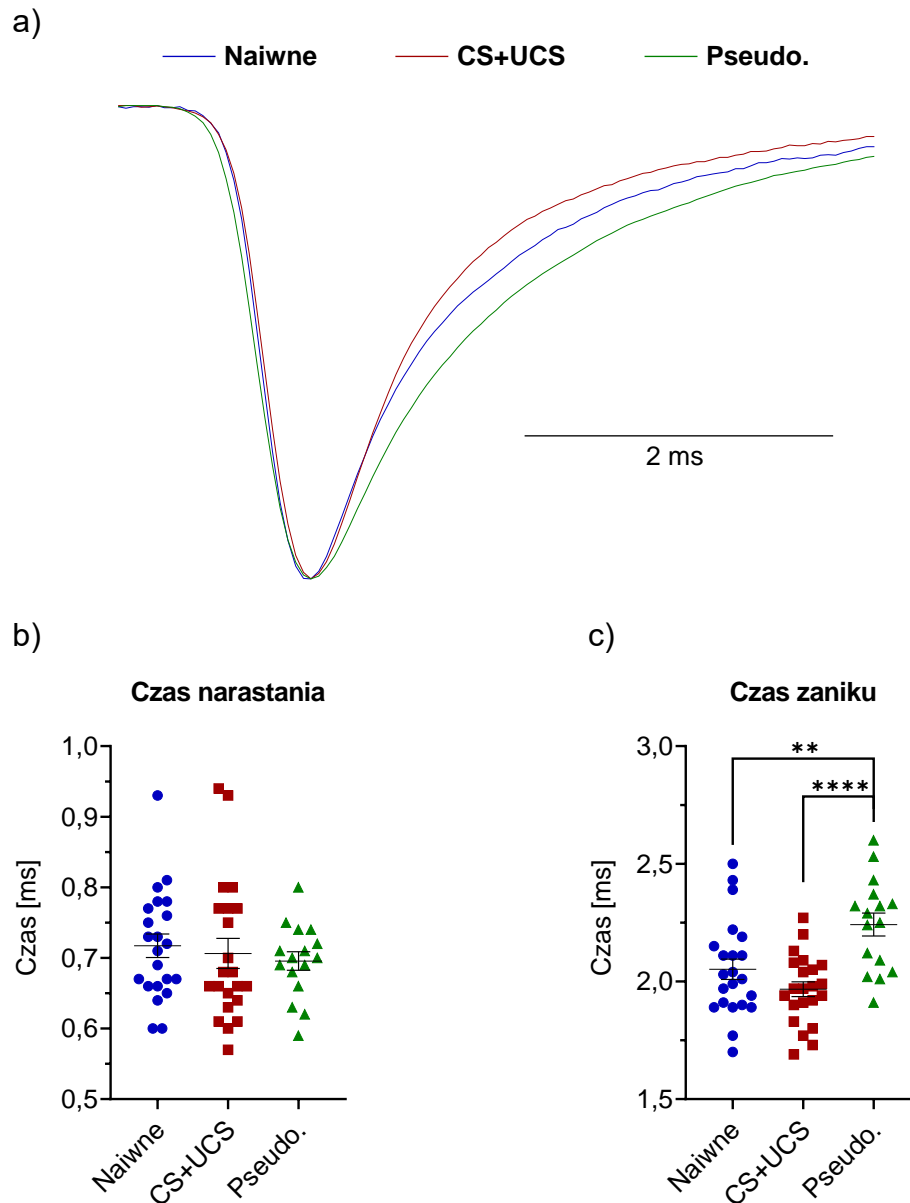
4.2.6. Wpływ uczenia na pobudzające przekaźnictwo synaptyczne dochodzące do Int-PV

W celu zbadania, czy zastosowane protokoły uczenia myszy powodują trwałe zmiany pobudzającego przekaźnictwa synaptycznego dochodzącego do Int-PV, zarejestrowano sEPSCs w tych komórkach w trzech grupach myszy. W trakcie analizy sEPSCs nie stwierdzono istotnych różnic w amplitudzie tych prądów między grupami testowanych zwierząt ($p=0,0728$) (ryc. 4.21.a, b). Średnie amplitud sEPSCs mierzyły (pA): $16,13 \pm 1,05$ w grupie Naiwnej; $19,07 \pm 0,79$ w CS+UCS i $16,81 \pm 1,07$ w Pseudo. Nie było również istotnych różnic w częstotliwościach występowania sEPSCs pomiędzy grupami ($p=0,1001$), średnie wartości częstotliwości tych prądów wynosiły (Hz): $8,74 \pm 0,90$ w grupie Naiwnej; $8,63 \pm 0,88$ w CS+UCS i $14,66 \pm 2,40$ w Pseudo. (ryc. 4.21.a, c). Ponadto grupy zbadanych interneuronów wykazywały podobny czas narastania sEPSCs ($p=0,6481$), którego średnie wynosiły (ms): $0,717 \pm 0,017$ w grupie Naiwnej; $0,706 \pm 0,021$ w CS+UCS i $0,696 \pm 0,013$ w Pseudo. (ryc. 4.22.a, b). Natomiast czas zaniku sEPSCs był dłuższy w grupie Pseudo. niż w grupie Naiwnej ($p=0,0070$) i CS+UCS ($p<0,0001$) (ryc. 4.22.a, c). Średnie wartości czasu zaniku badanych prądów wynosiły (ms): $2,052 \pm 0,044$ w grupie Naiwnej; $1,967 \pm 0,031$ w CS+UCS i $2,242 \pm 0,049$ w Pseudo.

Zwiększenie czasu zaniku sEPSCs może sugerować pogorszenie precyzji pobudzenia Int-PV. Powyższe zmiany mogą również wskazywać na istnienie pewnych mechanizmów kompensacyjnej plastyczności homeostatycznej. Wydłużenie czasu zaniku sEPSCs teoretycznie powinno zwiększyć ilość prądu wzbudzającego komórkę, co częściowo równoważyłoby spadek pobudliwości Int-PV.



Ryc. 4.21. Amplituda i częstotliwość sEPSCs w Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Przykładowe fragmenty rejestracji sEPSCs. **(b)** Analiza statystyczna nie wykazała różnic w amplitudzie sEPSCs między badanymi grupami zwierząt (One-way ANOVA, $F_{(2, 57)}=2,744$, $p=0,0728$). **(c)** Nie stwierdzono różnic w częstotliwości występowania tych prądów (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,1001$). **(b, c)** Naivne=22(10), CS+UCS=22(10), Pseudo.=16(10).



Ryc. 4.22. Kinytyka sEPSCs w Int-PV w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Otrzymane z pojedynczych komórek przykłady uśrednionych sEPSCs znormalizowane pod względem amplitudy. Liczba zdarzeń: Naiwne=2715, CS+UCS=2719, Pseudo.=4466. (b) Czas narastania sEPSCs był podobny we wszystkich analizowanych grupach (test Kruskal’a-Wallis’a, $p=0,6481$). (c) Natomiast czas zaniku badanych prądów był większy w grupie Pseudo. w stosunku do grupy Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2,57)}=10,67$, $p=0,0001$; test Tukey’a, $p=0,0070$) oraz CS+UCS (test Tukey’a, $p<0,0001$). (b, c) Naiwne=22(10), CS+UCS=22(10), Pseudo.=16(10).

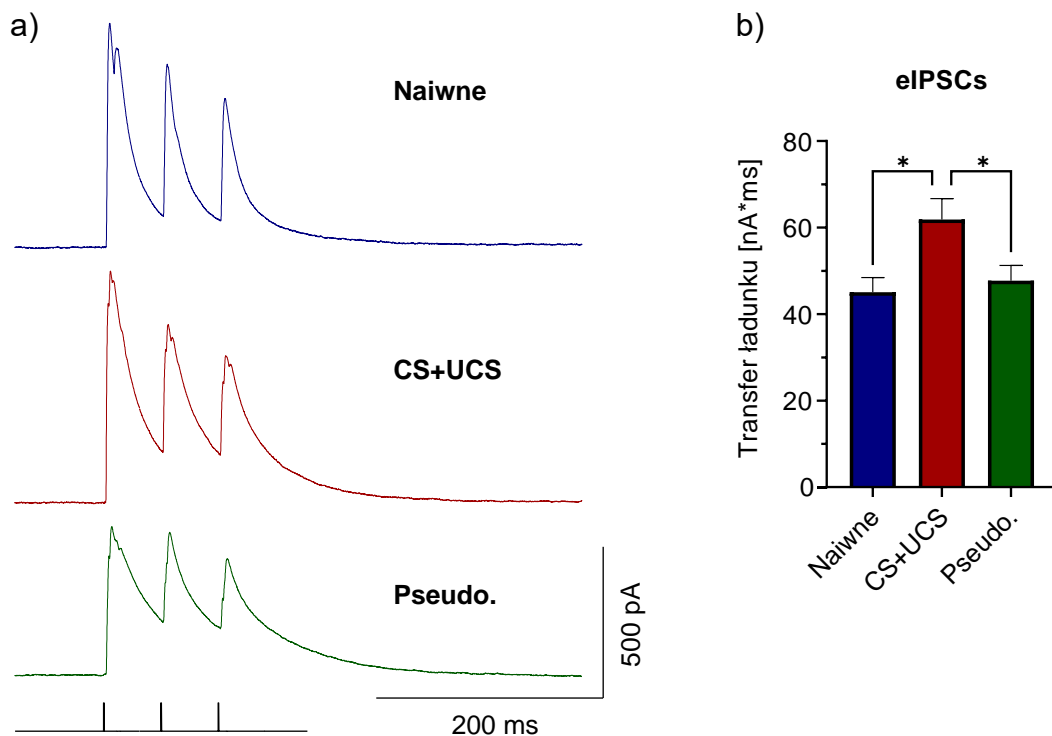
4.2.7. Wpływ uczenia na hamowanie neuronów pobudzających IV warstwy przez Int-PV

W celu zbadania, czy następują plastyczne zmiany hamownia pochodzącego od Int-PV w wyniku zastosowanych procedur uczenia myszy, zmierzono IPSCs wywołane optogenetycznie w neuronach pobudzających IV warstwy kory w skrawkach przygotowanych ze zwierząt poddanych dwóm formom uczenia. W doświadczeniach

wykorzystano transgeniczne myszy z ekspresją ChR2 w Int-PV, co umożliwiło selektywną aktywację tylko tej populacji interneuronów. Int-PV stymulowano trzema pulsami (0,5 ms) niebieskiego światła podawanymi w 50 ms odstępach.

Analiza ujawniła, że transfer ładunku eIPSCs w neuronach pobudzających zarejestrowanych ze zwierząt grupy CS+UCS jest większy w porównaniu z transferem ładunku grupy Naiwnej ($p=0,0416$), jak również Pseudo. ($p=0,0334$) (ryc. 4.23). Średnia wartość transferu ładunku wynosiła ($nA \cdot ms$): $45,067 \pm 3,403$ w grupie Naiwnej; $61,866 \pm 4,826$ w CS+UCS i $47,711 \pm 3,536$ w Pseudo.

Doświadczenie to wskazuje na zajście zmian plastycznych w połączeniach hamujących między Int-PV a komórkami glutaminianergicznymi. Prawdopodobnie wzrost hamowania komórek pobudzających przez Int-PV w grupie zwierząt warunkowanych wynikał wyłącznie ze zmian połączeń synaptycznych, gdyż nie zaobserwowano różnic w pobudliwości własnej Int-PV. Pomimo znaczącego spadku pobudliwości własnej Int-PV po pseudowarunkowaniu nie zanotowano zmian

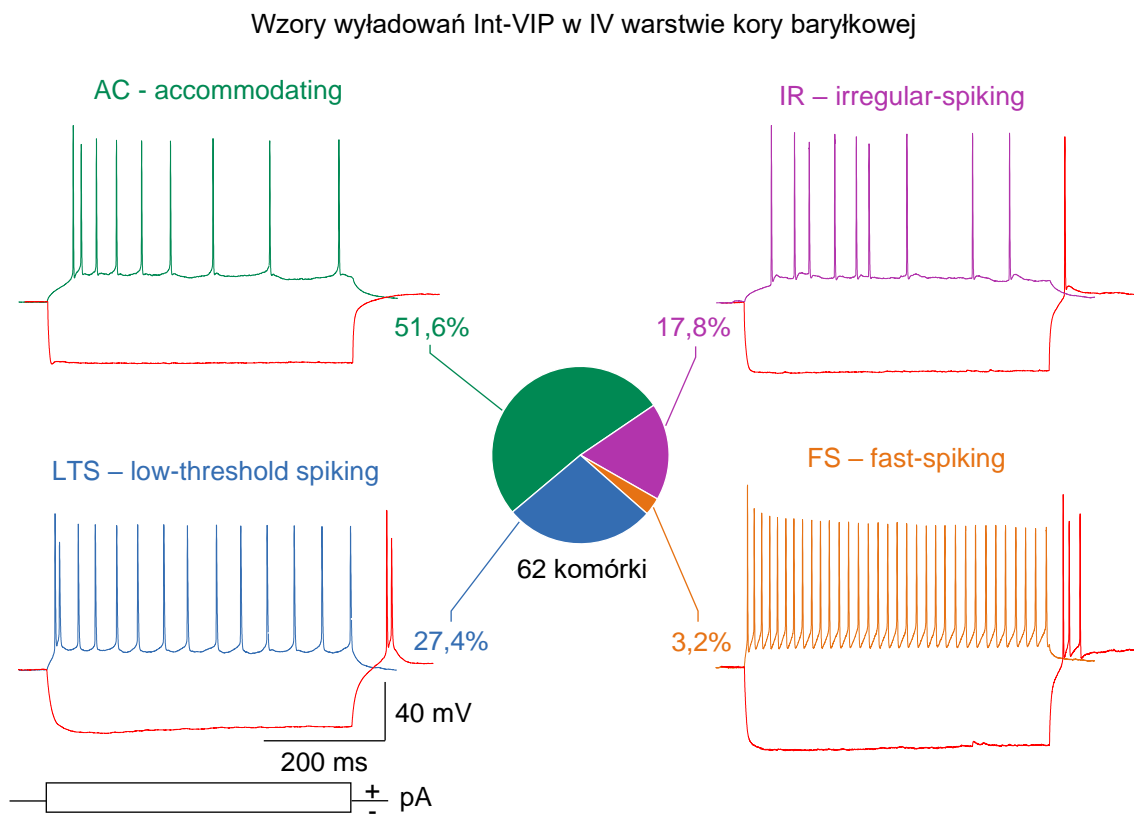


Ryc. 4.23. Transfer ładunku hamowania (eIPSCs) pochodzącego od Int-PV zarejestrowany w neuronach pobudzających IV warstwy kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Uśrednione zapisy (12 powtórzeń) eIPSCs otrzymane z pojedynczych neuronów będących najbliżej średniej populacyjnej transferu ładunku dla grupy. Na samym dole przedstawiono schemat trzech 0,5 ms pulsów niebieskiego światła aktywującego ChR2 w Int-PV. **(b)** Transfer ładunku eIPSCs był większy w neuronach pobudzających pochodzących ze zwierząt grupy CS+UCS w porównaniu z neuronami pobudzającymi z grupy Naiwnej (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,0161$; test Dunn'a, $p=0,0416$) oraz Pseudo. (test Dunn'a, $p=0,0334$). Naiwne=38(18), CS+UCS=38(13), Pseudo.=43(9).

w hamowaniu komórek glutaminianergicznym pochodzących od Int-PV tej grupy myszy. Sugeruje to występowanie homeostatycznego mechanizmu kompensacyjnego o charakterze synaptycznym.

4.3.1. Charakterystyka populacji Int-VIP w IV warstwie kory baryłkowej myszy

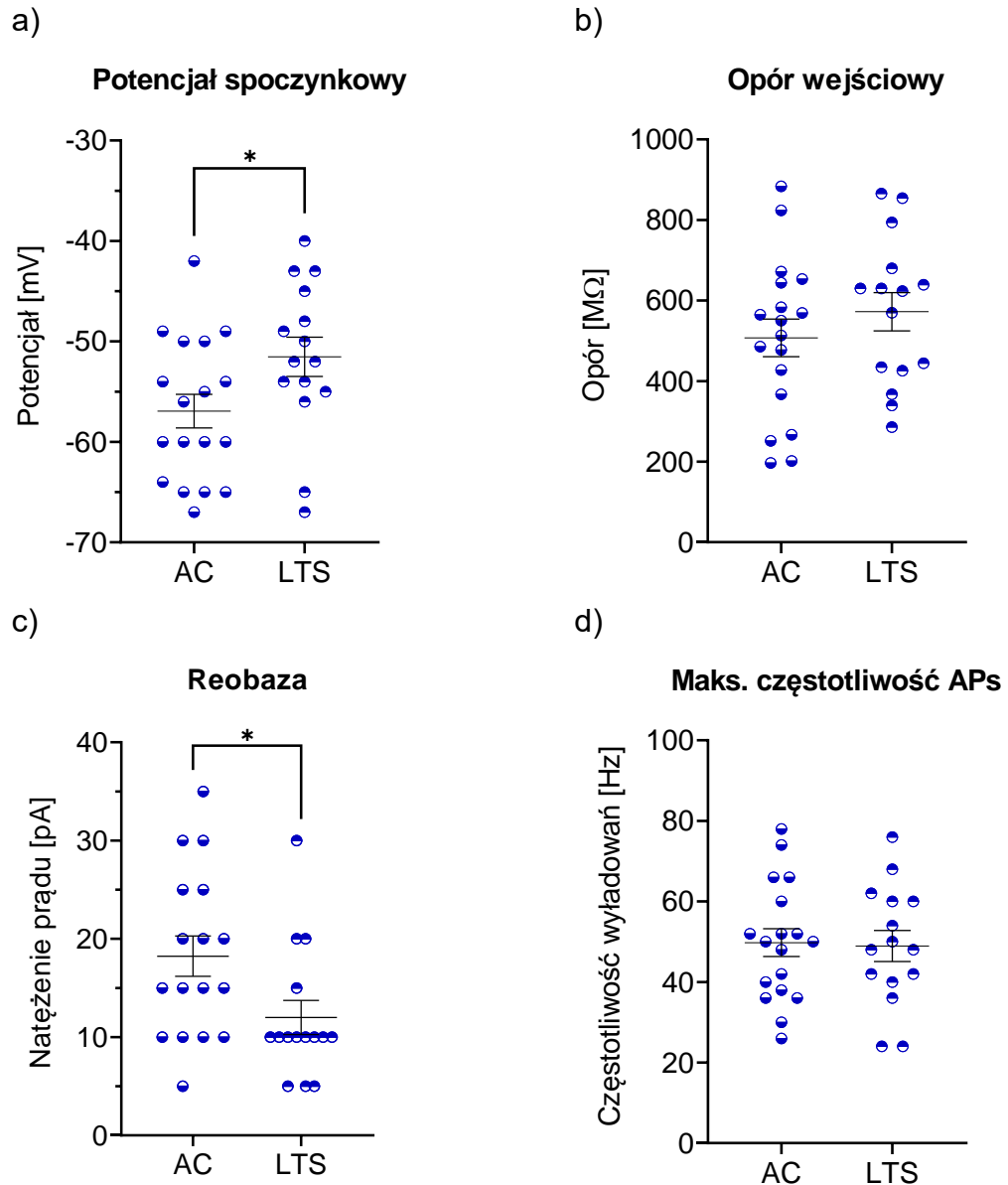
Int-VIP w IV warstwie kory baryłkowej myszy były trzecią zbadaną klasą komórek. Analiza wyładowań Int-VIP w odpowiedzi na podawany prąd pozwoliła wyodrębnić cztery różne typy wzorów wyładowań. W skład nagranych Int-VIP pochodzących z grupy zwierząt naiwnych (62 neurony w 31 myszach) wchodziły: 32 komórki o wzorze AC (51,6%), 17 komórek o wzorze LTS (27,4%), 11 komórek IR (17,8%) oraz 2 komórki FS (3,2%) (ryc. 4.24.).



Ryc. 4.24. Udział procentowy Int-VIP w IV warstwie kory baryłkowej myszy ze względu na wzór wyładowań. Na rycinie przedstawiono cztery wzory wyładowań Int-VIP zarejestrowanych w grupie zwierząt Naiwnych; n=62 (31).

Z uwagi na zróżnicowanie populacji Int-VIP pod względem wzorów wyładowań, do dalszej analizy wybrano tylko dwa najliczniejsze typy: AC i LTS. Na wstępie obie grupy interneuronów porównano w obrębie danych uzyskanych z myszy naiwnych, aby sprawdzić czy zasadna jest analiza wpływu uczenia na aktywność Int-VIP bez

rozdzielenia na typy wyładowań komórek. Porównanie wykonano pod względem podstawowych parametrów elektrofizjologicznych: potencjału spoczynkowego błony, oporu wejściowego błony, reobazy oraz maksymalnej częstotliwości wyładowań. Stwierdzono, że Int-VIP o wzorze AC (Int-VIP-AC) oraz o wzorze LTS (Int-VIP-LTS) są różne pod względem potencjału spoczynkowego ($p=0,0425$), komórki AC były silniej spolaryzowane niż LTS (ryc. 4.25.a). Średnie potencjałów spoczynkowych przedstawiały



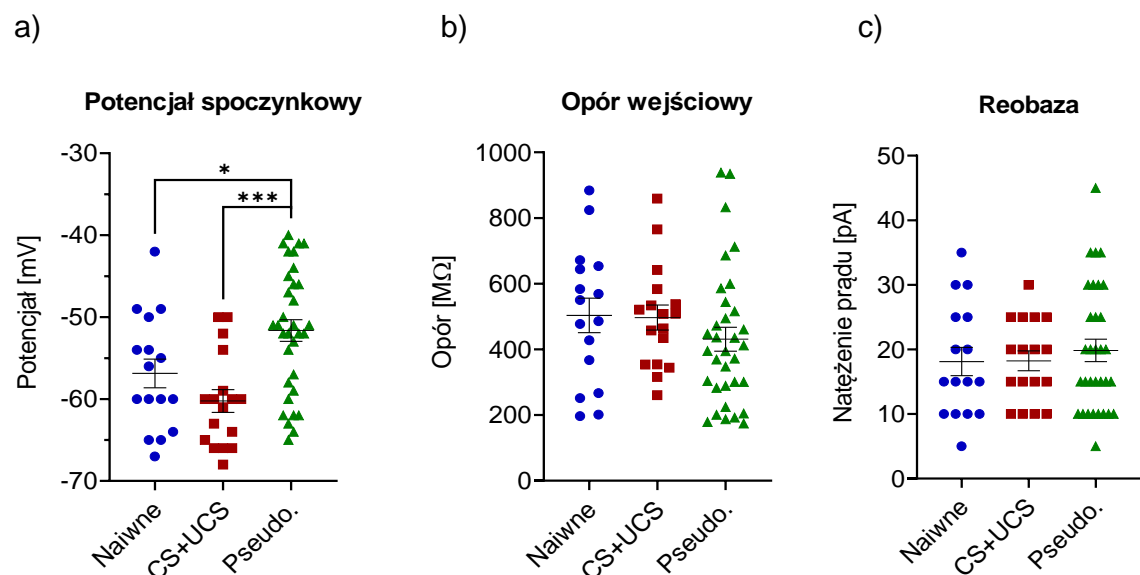
Ryc. 4.25. Podstawowe parametry elektrofizjologiczne Int-VIP-AC i Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej myszy kontrolnych. (a) Potencjał spoczynkowy błony Int-VIP-AC był większy niż w Int-VIP-LTS ($p=0,0425$). (b) Opór wejściowy błony był podobny między grupami ($p=0,3405$). (c) Reobaza w Int-VIP-AC była wyższa niż w Int-VIP-LTS ($p=0,0204$). (d) Nie było różnicy w maksymalnej częstotliwości wywołanych APs pomiędzy badanymi typami interneuronów ($p=0,8714$). (a, b, d) Niesparowany t-test; AC=18(13), LTS=15(10). (c) test Mann'a-Whitney'a; AC=17(12), LTS=15(10).

się następująco (mV): $-56,9 \pm 1,7$ u AC i $-51,5 \pm 2,0$ u LTS. Int-VIP o wzorach AC i LTS wykazywały natomiast zbliżone wartości oporu wejściowego błony ($p=0,3405$), których średnie wartości wynosiły ($M\Omega$): $507,4 \pm 46,6$ w przypadku AC oraz $572,3 \pm 47,6$ w grupie LTS (ryc. 4.25.b). Dwa typy komórek cechowały się jednak odmiennymi wartościami reobazy, która w przypadku interneuronów AC była większa ($p=0,0204$) (ryc. 4.25.c). Średnie w grupach wynosiły (pA): $18,2 \pm 2,1$ w AC i $12,0 \pm 1,7$ w LTS. Natomiast maksymalna częstotliwość z jaką oba typy interneuronów wyładowywały się była podobna ($p=0,8714$) (ryc. 4.25.d). Średnie w grupach osiągnęły (Hz): $49,8 \pm 3,5$ w AC i $48,9 \pm 3,9$ w LTS.

W związku z różnicą w potencjale spoczynkowym i reobazie między Int-VIP o wzorze AC i LTS u zwierząt kontrolnych, analizę wpływu uczenia na aktywność interneuronów VIP wykonano oddzielnie dla dwóch typów komórek.

4.3.2. Wpływ uczenia na podstawowe parametry elektrofizjologiczne Int-VIP-AC

Analiza potencjałów spoczynkowych Int-VIP-AC wykazała, że interneurony pochodzące od zwierząt grupy Pseudo. były słabiej spolaryzowane względem interneuronów grupy Naiwnej ($p=0,0447$) i CS+UCS ($p=0,0004$) (ryc. 4.26.a). Średnie potencjałów spoczynkowych w grupach wynosiły (mV): $-56,9 \pm 1,8$ w Naiwnej; $-60,2 \pm 1,4$ w CS+UCS i $-51,6 \pm 1,3$ w Pseudo. Analiza oporów wejściowych badanych komórek nie wykazała różnic

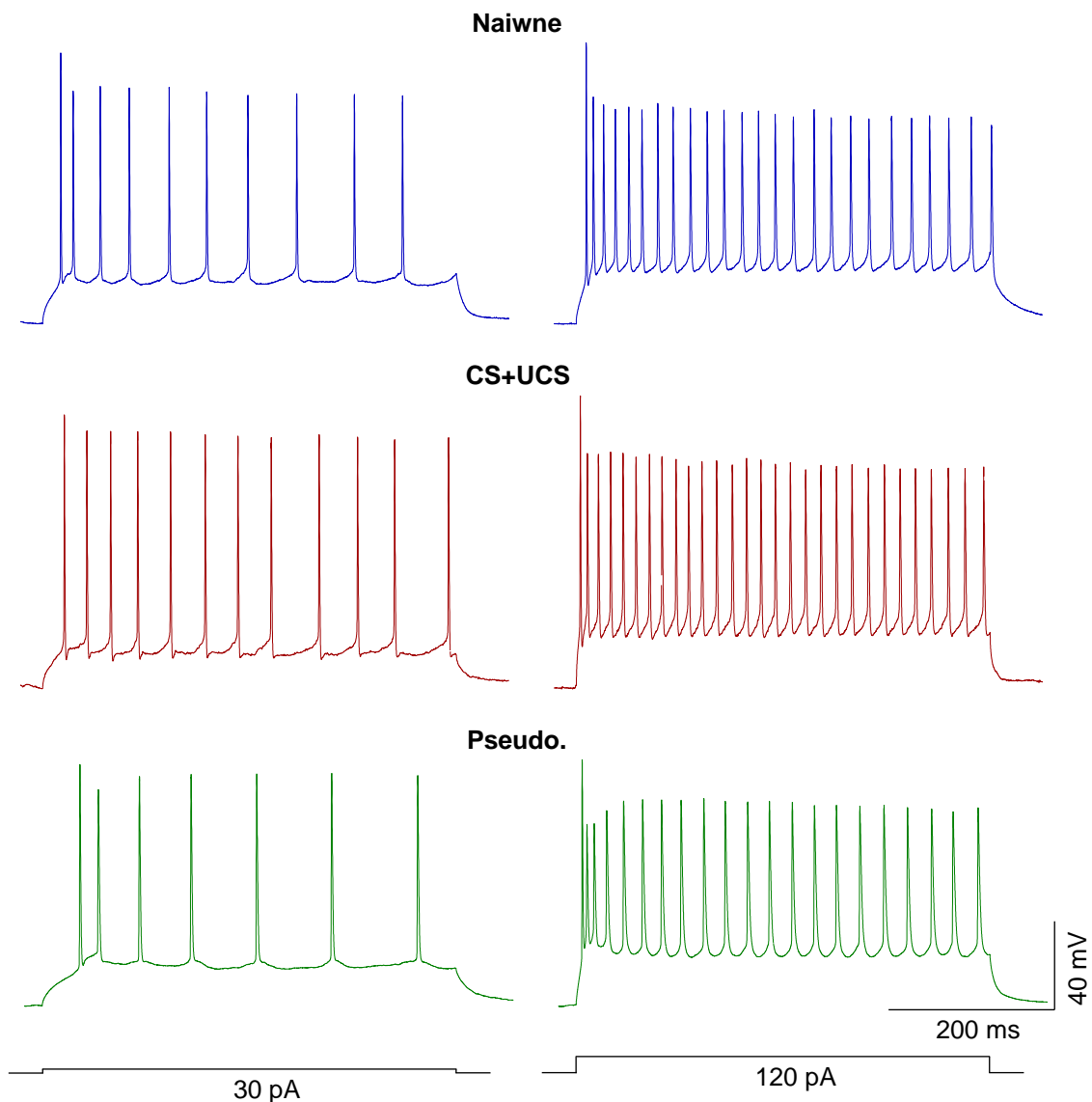


Ryc. 4.26. Podstawowe parametry Int-VIP-AC w IV warstwie kory barylkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Potencjał spoczynkowy był niższy w grupie Pseudo. niż w grupie Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2, 63)}=9,060$, $p=0,0003$; test Tukey'a, $p=0,0447$) i CS+UCS (test Tukey'a, $p=0,0004$). (b) Nie odnotowano różnic w wartościach oporu wejściowego błony między badanymi grupami (One-way ANOVA, $F_{(2, 63)}=1,013$, $p=0,3689$). (c) Nie było istotnych różnic w reobazie między badanymi grupami (One-way ANOVA, $F_{(2, 62)}=0,2926$, $p=0,7474$). (a, b) Naiwne=16(11), CS+UCS=17(10), Pseudo.=33(20). (c) Naiwne=16(11), CS+UCS=17(10), Pseudo.=32(19).

między grupami ($p=0,3689$), średnie wewnątrz grup wynosiły ($M\Omega$): $503,4 \pm 52,5$ u zwierząt Naiwnych; $496,6 \pm 38,1$ u CS+UCS i $430,9 \pm 36,4$ u Pseudo. (ryc. 4.26.b). W przypadku reobazy nie zauważono znaczących różnic między grupami interneuronów ($p=0,7474$), średnie tego parametru wynosiły (pA): $18,1 \pm 2,2$ w grupie Naiwnej; $18,2 \pm 1,5$ w CS+UCS i $19,8 \pm 1,7$ w Pseudo. (ryc. 4.26.c).

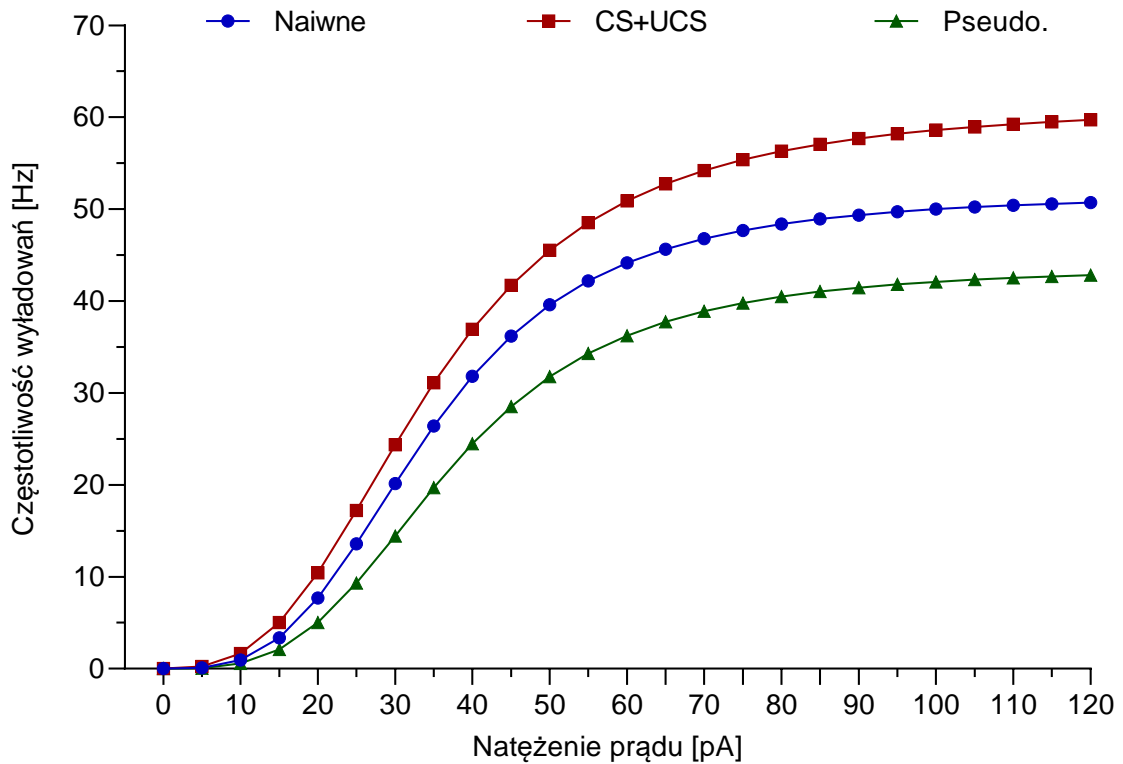
4.3.3. Wpływ uczenia na pobudliwość własną Int-VIP-AC

Aby zbadać, czy uczenie powoduje zmiany plastyczne w Int-VIP-AC, dokonano porównania pobudliwości własnej tego typu interneuronów w oparciu o analizę

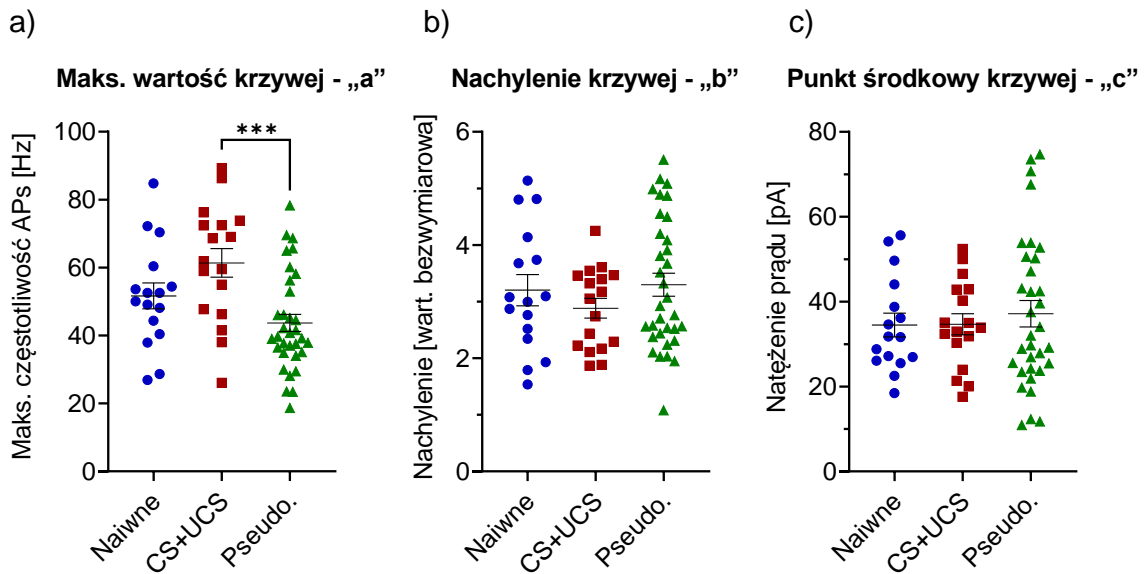


Ryc. 4.27. Przykłady wyładowań Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Lewa część ryciny przedstawia wyładowania Int-VIP-AC wywołane przez prostokątny puls prądowy o natężeniu 30 pA. Prawa część prezentuje wyładowania wywołane pulsem o natężeniu 120 pA. Przy obydwu wartościach natężenia prądu widać, że częstotliwość wyładowań komórki pochodzącej z grupy CS+UCS jest wyższa od częstotliwość APs komórki grupy Pseudo.

Krzywe sigmoidalne



Ryc. 4.28. Uśrednione krzywe sigmoidalne pobudliwości własnej dla Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Krzywe zostały wyrysowane na podstawie następującej liczby komórek i zwierząt: Naiwne=16(11), CS+UCS=17(10), Pseudo.=33(20).



Ryc. 4.29. Parametry krzywych sigmoidalnych pobudliwości własnej dla Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Maksymalna częstotliwość wyładowań była niższa w grupie Pseudo. względem grupy CS+UCS (One-way ANOVA, $F_{(2,63)}=7,431$, $p=0,0013$; test Tukey'a, $p=0,0009$), ale nie Naiwnej. (b) Nachylenia krzywych między grupami były podobne (One-way ANOVA, $F_{(2,63)}=0,8808$, $p=0,4195$). (c) Punkty środkowe krzywych nie różniły się pomiędzy grupami (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,9813$). (a-c) Naiwne=16(11), CS+UCS=17(10), Pseudo.=33(20).

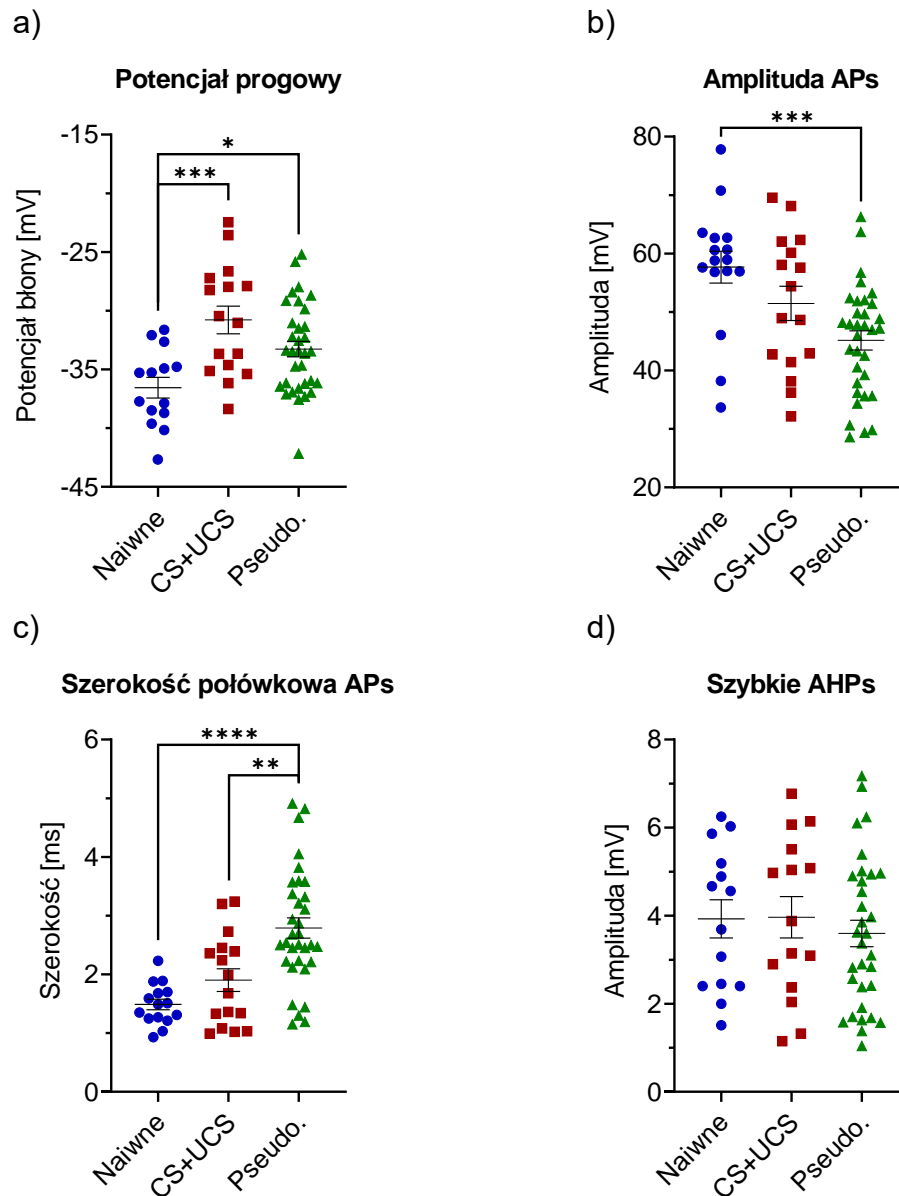
parametrów opisujących krzywe sigmoidalne wygenerowane dla każdej zarejestrowanej komórki, tak jak to miało miejsce przy badaniu Int-SOM i Int-PV. W wypadku Int-VIP-AC analiza ta ujawniła, że maksymalna częstotliwość wyładowań interneuronów – wielkość parametru „a” krzywych sigmoidalnych – w grupie Pseudo. była niższa w zestawieniu z grupą CS+UCS ($p=0,0009$), ale nie w porównaniu z grupą Naiwną ($p=0,2176$) (ryc. 4.27., 4.28., 4.29.a). Nie stwierdzono też różnic istotnych statystycznie między myszami grupy Naiwnej i CS+UCS ($p=0,1759$). Wartości średnie parametru „a” dla badanych grup prezentowały się następująco (Hz): $51,7 \pm 3,8$ dla Naiwnej; $61,4 \pm 4,2$ dla CS+UCS i $43,7 \pm 2,5$ dla Pseudo. Krzywe sigmoidalne interneuronów analizowanych grup myszy nie różniły się pod względem nachylenia ($p=0,4195$) – parametr „b” (ryc. 4.29.b). Średnie wartości tego parametru wynosiły (wart. bezwymiarowa): $3,20 \pm 0,28$ w grupie Naiwnej; $2,88 \pm 0,17$ w CS+UCS i $3,30 \pm 0,20$ w Pseudo. Również wartości punktu środkowego krzywych (parametr „c”) były zbliżone pomiędzy grupami komórek ($p=0,9813$) (ryc. 4.29.c). Średnie wartości tego parametru osiągnęły (pA): $34,5 \pm 2,8$ w grupie Naiwnej; $34,7 \pm 2,5$ w CS+UCS i $37,2 \pm 3,1$ w Pseudo.

Analiza statystyczna uzyskanych wyników nie pozwala na jednoznaczne wnioskowanie. Uzyskane wyniki mogą sugerować, że w trakcie dwóch form uczenia jakimi są warunkowanie i pseudowarunkowanie dochodzi do niewielkich zmian pobudliwości własnej Int-VIP-AC. Być może zmiany te zachodzą w przeciwstawnych kierunkach, prowadząc do zwiększenia pobudliwości Int-VIP-AC w wyniku warunkowania, a do zmniejszenia w wyniku pseudowarunkowania. Ewentualnie w związku z tym, że wzory wyładowań nie są powiązane ze specyficzną morfologią interneuronów, możliwe jest, że zmiany pobudliwości nie dotyczą interneuronów o określonym wzorze wyładowań, tylko obejmują określony typu morfologiczny. Niewykluczone jest również, że uzyskany wynik jest przypadkiem i stwierdzona różnica istotna statystycznie w teście One-way ANOVA jest błędem pierwszego rodzaju.

4.3.4. Wpływ uczenia na parametry kształtu potencjałów czynnościowych Int-VIP-AC

W związku z zaobserwowanymi różnicami w pobudliwości własnej Int-VIP-AC między zwierzętami warunkowanymi a pseudowarunkowanymi, poddano analizie kształty APs. Celem tych analiz była próba przybliżenia odpowiedzi na pytanie dotyczące mechanizmów zmian pobudliwości własnej tych interneuronów.

Własności APs Int-VIP-AC zanalizowano tak, jak parametry APs Int-SOM i Int-PV. Porównania między grupami ujawniły niższy potencjał progowy w grupie CS+UCS ($p=0,0005$) oraz Pseudo. ($p=0,0303$) względem grupy Naiwnej (ryc. 4.30.a). Wartości średnie tego potencjału wynosiły (mV): $-36,56 \pm 0,88$ w grupie Naiwnej;



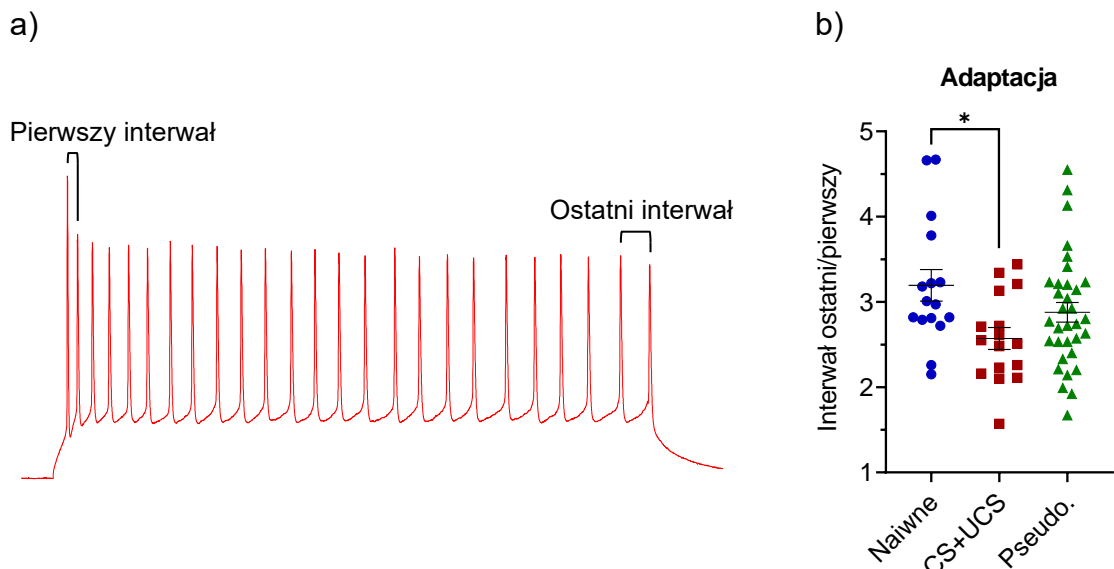
Ryc. 4.30. Parametry potencjałów czynnościowych przy maksymalnej częstotliwości wyładowań dla Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Próg wyładowań był niższy w grupie Naiwnej w odniesieniu do grupy CS+UCS (One-way ANOVA, $F_{(2, 60)}=7,983$, $p=0,0008$; test Tukey'a, $p=0,0005$) oraz Pseudo. (test Tukey'a, $p=0,0303$); Naiwne=14(9), CS+UCS=16(9), Pseudo.=33(20). **(b)** W grupie Pseudo. średnia amplituda APs była niższa od średniej amplitudy w grupie Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2, 62)}=8,167$, $p=0,0007$; test Tukey'a, $p=0,0005$); Naiwne=16(11), CS+UCS=16(9), Pseudo.=33(20). **(c)** APs grupy Pseudo. były szersze względem APs grupy Naiwnej (test Kruskal'a-Wallis'a, $p<0,0001$; test Dunn'a, $p=<0,0001$), a także CS+UCS (test Dunn'a, $p=0,0100$); Naiwne=15(10), CS+UCS=16(9), Pseudo.=33(20). **(d)** Nie było różnic między amplitudami szybkich AHPs (One-way ANOVA, $F_{(2, 58)}=0,3174$, $p=0,7293$); Naiwne=14(10), CS+UCS=15(8), Pseudo.=32(19).

-30,78 ±1,18 w CS+UCS i -33,27 ±0,67 w Pseudo. Dodatkowo amplituda APs była mniejsza w grupie Pseudo. w zestawieniu z grupą Naiwną (p=0,0005) (ryc. 4.30.b). Średnie miary tej amplitudy wynosiły (mV): 57,68 ±2,72 w grupie Naiwnej; 51,47 ±2,92 w CS+UCS i 45,14 ±1,64 w Pseudo. Szerokości połówkowe APs były większe w grupie komórek Pseudo. w porównaniu z grupą Naiwną (p<0,0001) i CS+UCS (p=0,0100) (ryc. 4.30.c). Średnie szerokości APs mierzyły (ms): 1,488 ±0,090 w grupie Naiwnej; 1,902 ±0,194 w CS+UCS i 2,790 ±0,172 w Pseudo. Nie stwierdzono różnic w amplitudach szybkich AHPs (p=0,7293), których średnie wartości w grupach wynosiły (mV): 3,93 ±0,43 w Naiwnej; 3,97 ±0,47 w CS+UCS i 3,60 ±0,30 w Pseudo. (ryc. 4.30.d).

Uzyskane wyniki sugerują, że warunkowanie i pseudowarunkowanie prowadzą do zmian w parametrach APs. Większa szerokość połówkowa APs Int-VIP-AC grupy Pseudo. w stosunku do grupy CS+UCS częściowo może tłumaczyć różnice między pobudliwościami komórek obydwu grup.

Analiza stosunku ostatniego interwału względem pierwszego interwału pokazała, że grupa CS+UCS posiada niższy współczynnik adaptacji niż grupa Naiwna (p=0,0234) (ryc. 4.31.b). Współczynnik adaptacji wynosił (wart. bezwymiarowa): 3,19 ±0,18 w grupie Naiwnej; 2,57 ±0,13 w CS+UCS i 2,88 ±0,12 w Pseudo.

Reasumując, analiza pobudliwości Int-VIP-AC nie wykazała różnic w parametrach krzywej sigmoidalnej między grupą Naiwną a grupą CS+UCS i Pseudo., ale ujawniła

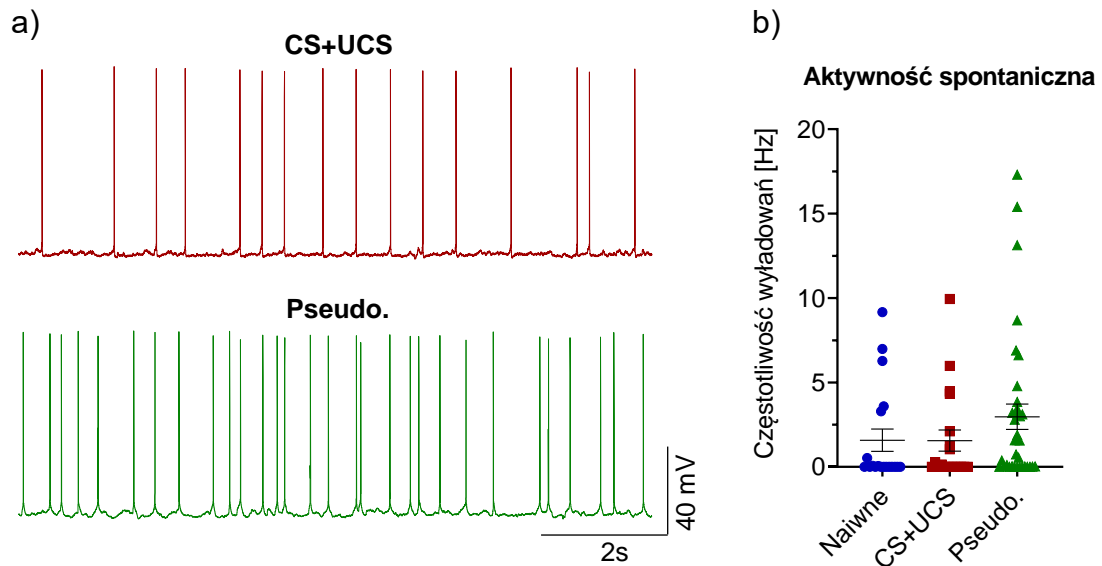


Ryc. 4.31. Adaptacja przy maksymalnej częstotliwości wyładowań dla Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Schemat obrazujący wyładowania z zaznaczonymi interwałami między APs. **(b)** Adaptacja wyładowań w grupie CS+UCS była mniejsza w stosunku do adaptacji w grupie Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2,62)}=3,670$, $p=0,0312$; test Tukey'a, $p=0,0234$). Naiwne=16(11), CS+UCS=16(10), Pseudo.=33(20).

mniejszą pobudliwość grupy Pseudo. w porównaniu z grupą CS+UCS. Bardziej zdepolaryzowane wartości potencjału spoczynkowego i potencjału progowego oraz zwiększenie szerokości połówkowej APs w grupie zwierząt Pseudo. w stosunku do grupy Naiwnej sugerują subtelne osłabienie pobudliwości Int-VIP-AC wskutek pseudowarunkowania. Z kolei warunkowanie skutkowało zmniejszeniem adaptacji wyładowań, co mimo zmian w częstotliwości wyładowań, sugeruje modyfikacje w sposobie wyładowywania się komórek grupy CS+UCS. Jednak wyniki te są trudne do jednoznacznej interpretacji.

4.3.5. Brak zmian w aktywności spontanicznej Int-VIP-AC

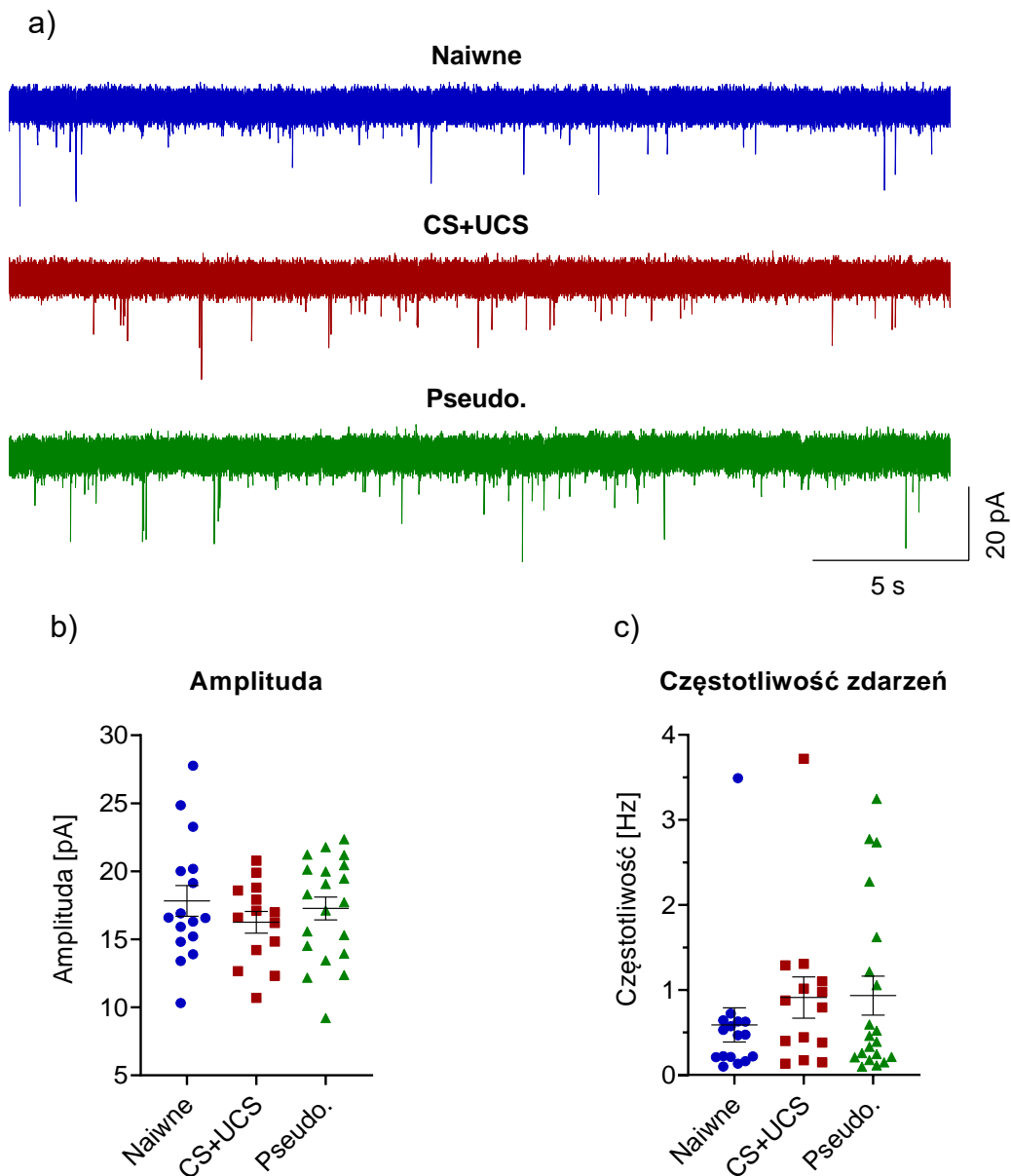
W tej serii doświadczeń zbadano, czy ewentualne zmiany w pobudliwości własnej badanych interneuronów przekładają się na zmiany w ich aktywności spontanicznej. Analiza częstotliwości spontanicznie pojawiających się APs nie pozwoliła jednak stwierdzić różnic w aktywności spontanicznej Int-VIP-AC między badanymi grupami zwierząt ($p=0,0829$) (ryc. 4.32.). Średnia aktywność spontaniczna wynosiła (Hz): $1,58 \pm 0,66$ w grupie Naiwnej; $1,56 \pm 0,63$ w CS+UCS i $2,97 \pm 0,75$ w Pseudo.



Ryc. 4.32. Aktywność spontaniczna Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Przykładowe aktywności spontaniczne komórek znajdujących się najbliżej średniej populacyjnej dla grupy. Nie przedstawiono przykładu aktywności spontanicznej dla grupy Naiwnej z powodu braku w próbie elementów w zakresie błędów standardowych – populacja nie ma rozkład gaussofskiego. (b) Badane grupy komórek wykazywały podobną aktywność spontaniczną (test Kruskal’a-Wallis’a, $p=0,0829$). Naiwne=19(15), CS+UCS=19(12), Pseudo.=35(21).

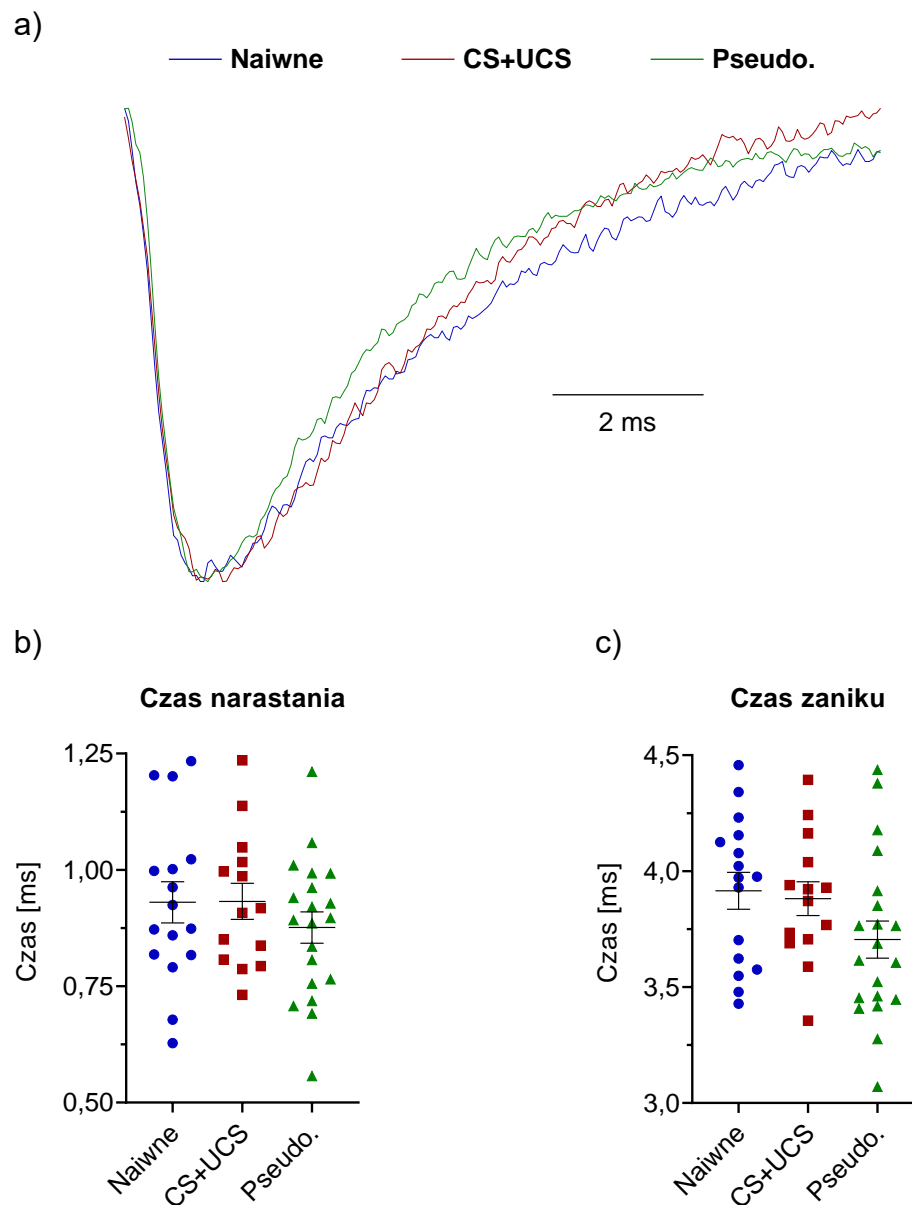
4.3.6. Brak zmian w pobudzającym przekąźnictwie synaptycznym dochodzącym do Int-VIP-AC

W ostatnim etapie analizy Int-VIP-AC zmierzono sEPSCs, aby sprawdzić czy dochodzi do zmian synaptycznych ich wejść pobudzających po uczeniu u myszy. Pomiary amplitudy sEPSCs nie pokazały różnic między grupami rejestrowanych interneuronów ($p=0,5323$) (ryc. 4.33.a, b). Średnie amplitud sEPSCs wynosiły (pA): $17,82 \pm 1,13$ w grupie Naiwnej; $16,26 \pm 0,80$ w CS+UCS i $17,27 \pm 0,84$ w Pseudo.



Ryc. 4.33. Amplituda i częstotliwość sEPSCs w Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Przykładowe fragmenty rejestracji sEPSCs. Badane grupy komórek nie różniły się pod względem: **(b)** amplitudy sEPSCs (One-way ANOVA, $F_{(2, 47)}=0,6390$, $p=0,5323$), **(c)** częstotliwości sEPSCs (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,4548$). **(b, c)** Naiwne=16(10), CS+UCS=14(8), Pseudo.=20(11).

Nie zauważono różnic w częstotliwości występowania sEPSCs między grupami zwierząt ($p=0,4548$) (ryc. 4.33.a, c). Średnie dla częstotliwości sEPSCs wynosiły w grupach (Hz): $0,59 \pm 0,20$ w Naiwnej; $0,91 \pm 0,24$ w CS+UCS i $0,93 \pm 0,23$ w Pseudo. Badane grupy Int-VIP-AC były również podobne pod względem czasu narastania sEPSCs ($p=0,4868$), średnie tego parametru wynosiły w grupach (ms): $0,930 \pm 0,044$ w Naiwnej; $0,932 \pm 0,039$ w CS+UCS i $0,876 \pm 0,034$ w Pseudo. (ryc. 4.34.a, b). Wszystkie grupy zwierząt okazały się ponadto mieć podobne czasy zaniku sEPSCs



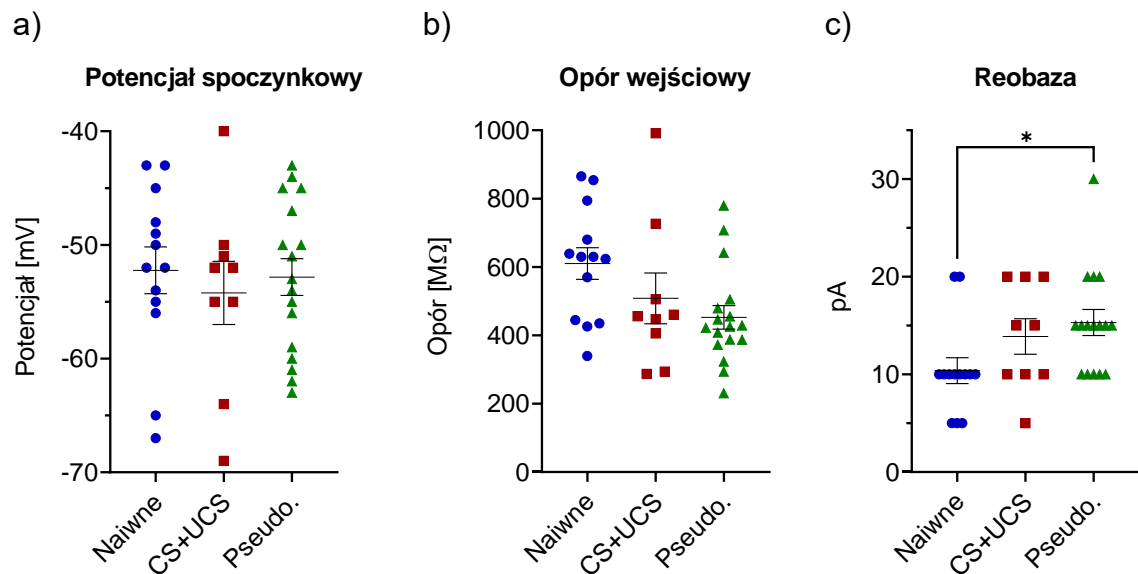
Ryc. 4.34. Kinetyka sEPSCs w Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Otrzymane z pojedynczych komórek przykłady uśrednionych sEPSCs znormalizowane pod względem amplitudy. Liczba zdarzeń: Naiwne=42, CS+UCS=107, Pseudo.=106. Nie stwierdzono różnic między grupami w: **(b)** czasie narastania sEPSCs (One-way ANOVA, $F_{(2,47)}=0,7311$, $p=0,4868$), **(c)** czasie zaniku sEPSCs (One-way ANOVA, $F_{(2,47)}=2,200$, $p=0,1221$). **(b, c)** Naiwne=16(10), CS+UCS=14(8), Pseudo.=20(11).

($p=0,1221$), którego średnie wyniosły (ms): $3,915 \pm 0,080$ w grupie Naiwnej; $3,88 \pm 0,073$ w CS+UCS oraz $3,705 \pm 0,080$ w Pseudo. (ryc. 4.34.a, c).

Podsumowując, zastosowane formy uczenia nie spowodowały zmian plastycznych synaps pobudzających unerwiających Int-VIP-AC.

4.3.7. Wpływ uczenia na podstawowe parametry elektrofizjologiczne Int-VIP-LTS

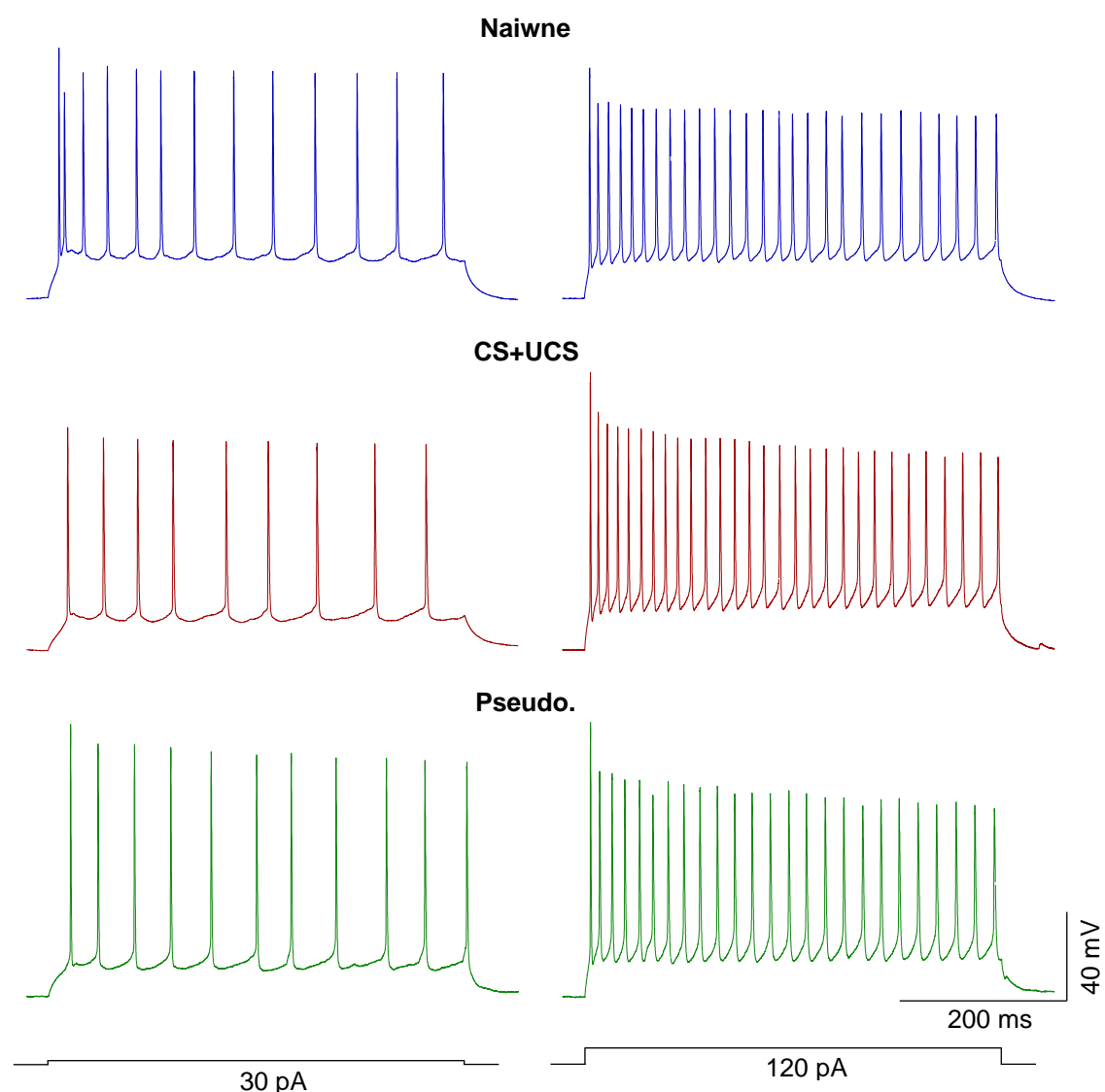
Druga klasa Int-VIP jaką poddano analizie składała się z komórek posiadających wyładowania typu LTS. W pierwszej kolejności zanalizowano podstawowe parametry elektrofizjologiczne Int-VIP-LTS pochodzących z trzech grup badanych zwierząt. Pomiary potencjałów spoczynkowych nie wykazały jednak różnic między grupami ($p=0,8186$) (ryc. 4.35.a). Średnie tych potencjałów wynosiły w grupach (mV): $-52,2 \pm 2,1$ w Naiwnej; $-54,2 \pm 2,8$ w CS+UCS i $-52,8 \pm 1,6$ w Pseudo. Nie stwierdzono również różnic w wartościach oporu wejściowego interneuronów pochodzących z różnych grup ($p=0,0573$) (ryc. 4.35.b). Średnie wartości oporu wejściowego wynosiły ($M\Omega$): $610,1 \pm 46,1$ w grupie Naiwnej; $508,2 \pm 74,1$ w CS+UCS i $452,5 \pm 34,4$ w Pseudo. Stwierdzono natomiast większą reobazę w grupie Pseudo. względem grupy Naiwnej ($p=0,0317$) (ryc. 4.35.c). Średnie wartości reobazy w grupach prezentowały się następująco (pA): $10,4 \pm 1,3$ w Naiwnej; $13,9 \pm 1,8$ w CS+UCS i $15,3 \pm 1,3$ w Pseudo.



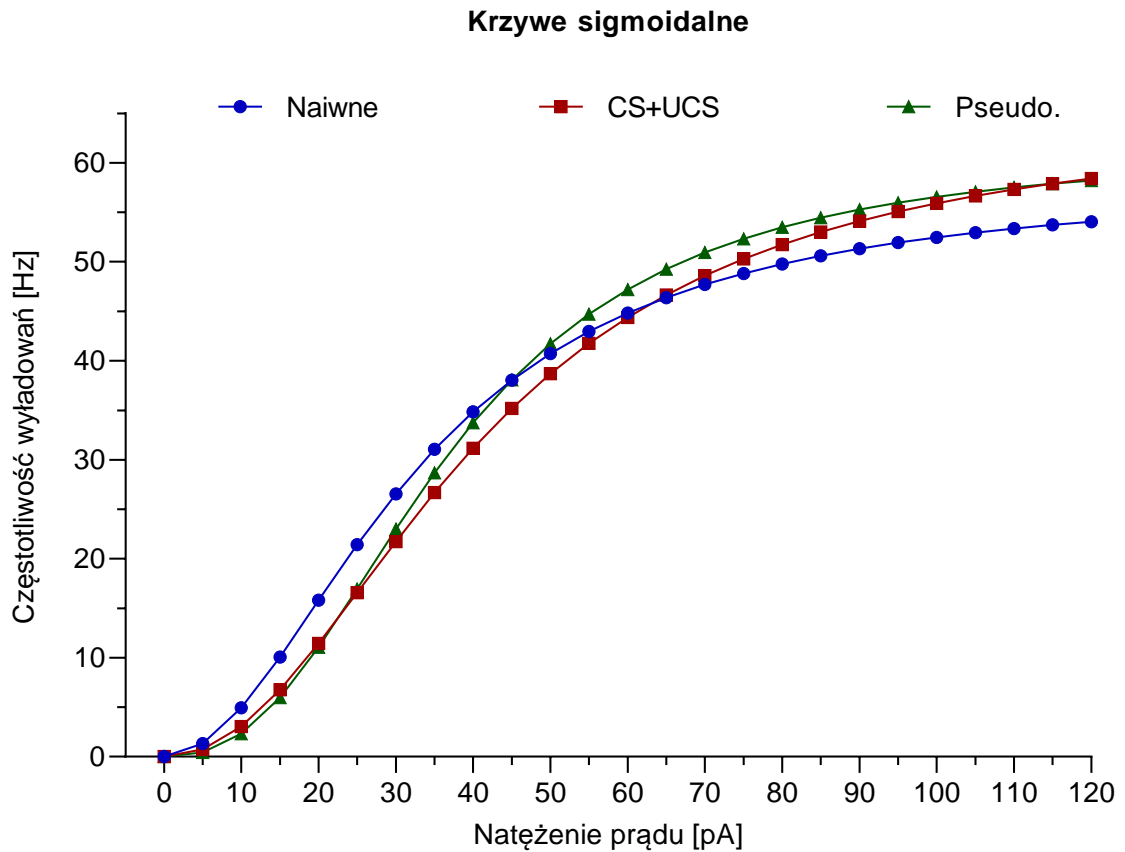
Ryc. 4.35. Podstawowe parametry Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Nie stwierdzono różnic między grupami w: (a) potencjałach spoczynkowych błon (One-way ANOVA, $F_{(2, 36)}=0,2013$, $p=0,8186$), (b) oporach wejściowych (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,0573$). (c) Reobaza w grupie Pseudo. była wyższa niż w grupie Naiwnej (test Kruskal'a-Wallis'a, $p=0,0329$; test Dunn'a, $p=0,0317$). (a, b) Naiwne=13(8), CS+UCS=9(8), Pseudo.=17(17). (c) Naiwne=13(8), CS+UCS=9(8), Pseudo.=16(16).

4.3.8. Brak zmian w pobudliwości własnej Int-VIP-LTS

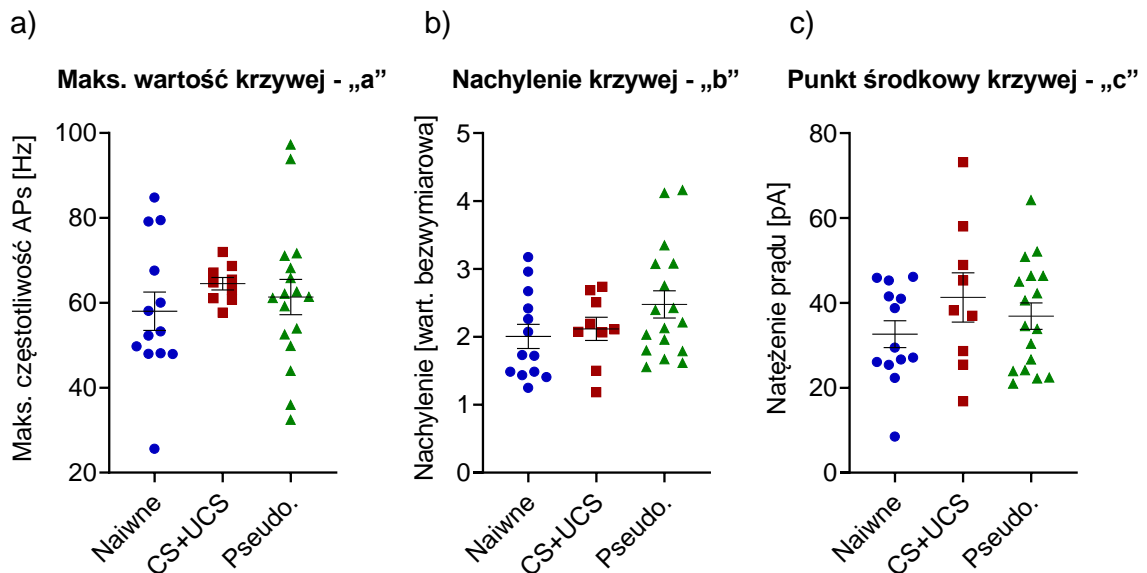
W następnym etapie analizy Int-VIP-LTS zbadano pobudliwość własną tych komórek, wykorzystując do tego wygenerowane krzywe sigmoidalne. Analiza maksymalnej częstotliwości wyładowań – parametru „a” krzywych sigmoidalnych – nie wykazała różnic między komórkami pochodzącym z trzech badanych grup zwierząt ($p=0,3091$) (ryc. 4.36., 4.37., 4.38.a). Średnie wartości tego parametru wewnątrz grup przedstawiały się następująco (Hz): $58,0 \pm 4,5$ w Naiwnej; $64,5 \pm 1,5$ w CS+UCS oraz $61,4 \pm 4,1$ w Pseudo. Krzywe sigmoidalne trzech grup zwierząt posiadały również podobne nachylenia – parametr „b” ($p=0,1799$) (ryc. 4.38.b). Parametr ten osiągnął



Ryc. 4.36. Przykłady wyładowań Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Lewa część ryciny przedstawia wyładowania Int-VIP-LTS wywołane przez prostokątny puls prądowy o natężeniu 30 pA. Prawa część prezentuje wyładowania wywołane pulsem o natężeniu 120 pA. Komórki wszystkich trzech grup wyładowują się z podobną częstotliwością.



Ryc. 4.37. Uśrednione krzywe sigmoidalne pobudliwości własnej dla Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Krzywe zostały wyrysowane na podstawie następującej liczby komórek i zwierząt: Naivne=13(8), CS+UCS=9(8), Pseudo.=17(17).



Ryc. 4.38. Parametry krzywych sigmoidalnych pobudliwości własnej dla Int-VIP-AC w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. Nie stwierdzono różnic między grupami w: (a) maksymalnych wartościach krzywych (test Kruskal’a-Wallis’a, $p=0,3091$), (b) nachyleniach krzywych (One-way ANOVA, $F_{(2,36)}=1,800$, $p=0,1799$), (c) punktach środkowych krzywych (One-way ANOVA, $F_{(2,36)}=1,099$, $p=0,3442$). (a-c) Naivne=13(8), CS+UCS=9(8), Pseudo.=17(17).

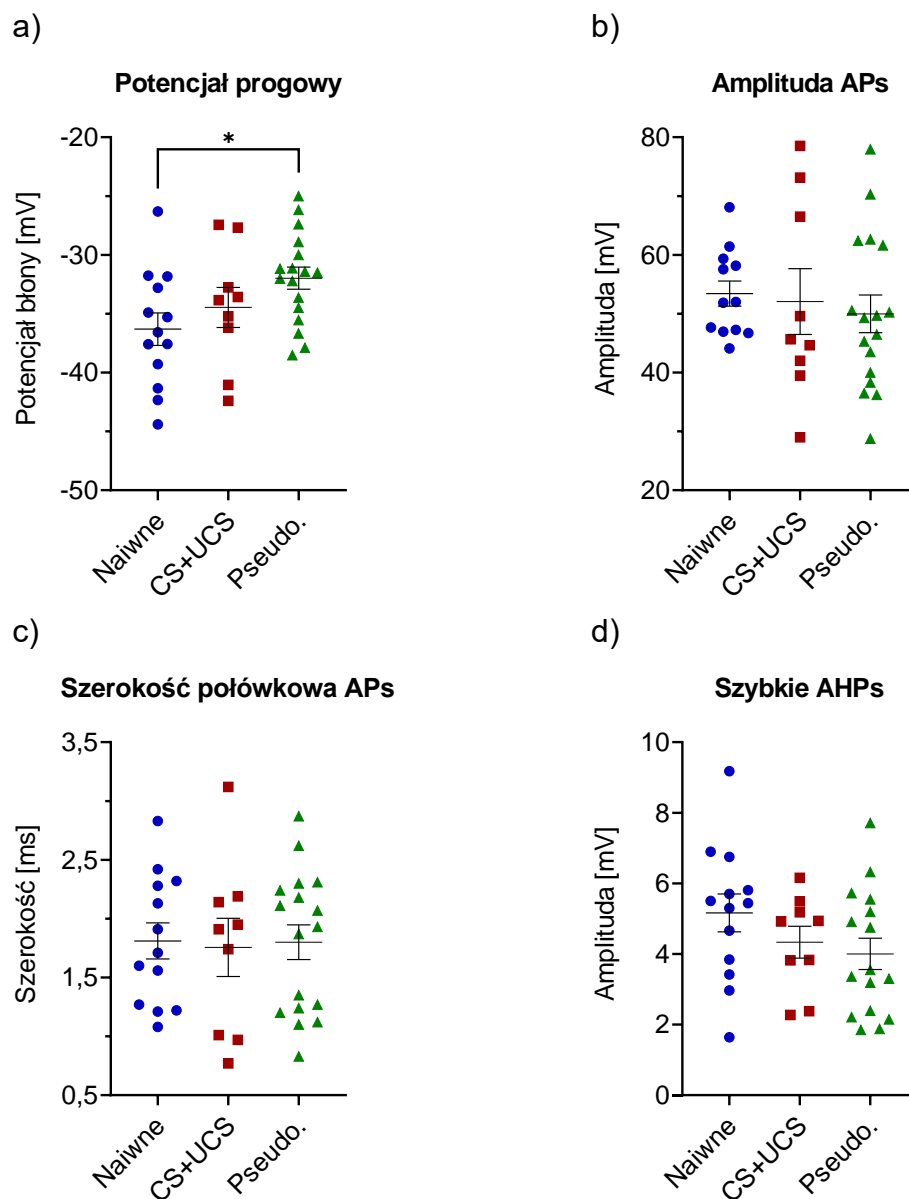
następujące średnie wartości w grupach (wart. bezwymiarowa): $2,01 \pm 0,18$ w Naiwnej; $2,12 \pm 0,17$ w CS+UCS i $2,48 \pm 0,20$ w Pseudo. Podobnie nie stwierdzono różnic w wartościach parametru „c” określającego punkt środkowy krzywej ($p=0,3442$) (ryc. 4.38.c). Wartości średnie tego parametru mierzyły w grupach (pA): $32,6 \pm 3,2$ w Naiwnej; $41,3 \pm 5,8$ w CS+UCS i $36,9 \pm 3,1$ w Pseudo.

Podsumowując, wyniki związane z reobazą wskazują na pewien spadek pobudliwości własnej Int-VIP-LTS w grupie Pseudo., jednak analiza krzywych sigmoidalnych tego nie potwierdza.

4.3.9. Wpływ uczenia na parametry kształtu potencjałów czynnościowych Int-VIP-LTS

Pomimo braku zaobserwowania zmian w pobudliwości własnej Int-VIP-LTS postanowiono przeprowadzić cały panel analiz, tak jak to miało miejsce w przypadku Int-VIP-AC, aby mieć kompletny obraz wpływu warunkowania i pseudowarunkowania zwierząt w badanym modelu na Int-VIP.

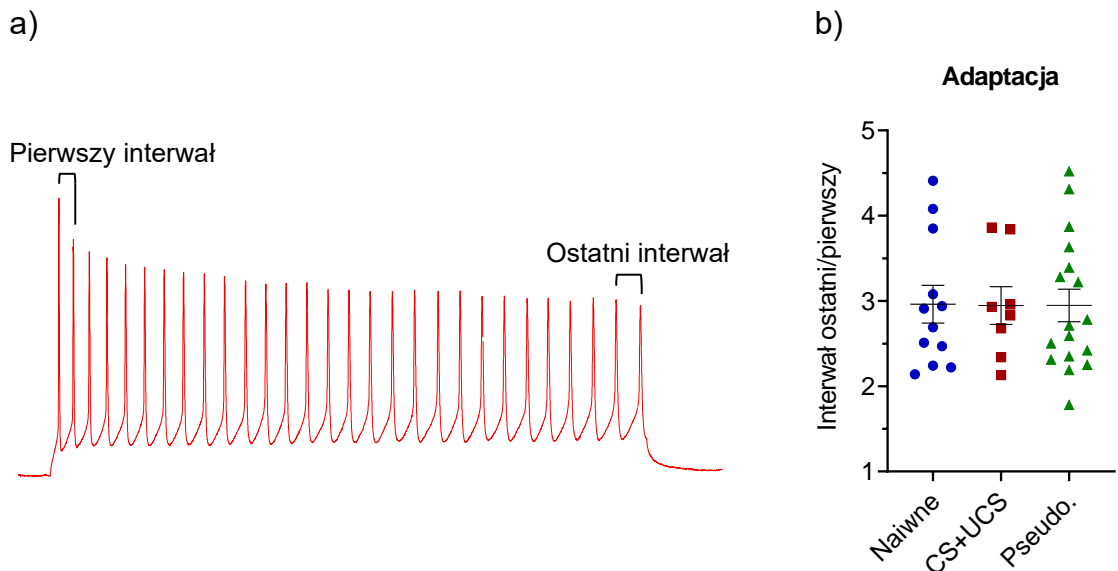
Analiza APs ujawniła wyższy potencjał progowy w grupie Pseudo. względem grupy Naiwnej ($p=0,0366$), średnie wewnątrz grup wynosiły (mV): $-36,31 \pm 1,38$ w Naiwnej; $-34,46 \pm 1,70$ w CS+UCS i $-31,98 \pm 0,94$ w Pseudo. (ryc. 4.39.a). Grupy komórek cechowały się podobną amplitudą APs ($p=0,7659$), jej średnie wielkości mierzyły (mV): $53,43 \pm 2,14$ w grupie Naiwnej; $52,06 \pm 5,59$ w CS+UCS i $49,98 \pm 3,20$ w Pseudo. (ryc. 4.39.b). Nie zaobserwowano także różnic pomiędzy grupami w pomiarach szerokości połówkowej APs ($p=0,9775$) (ryc. 4.39.c). Wartości średnie tego parametru w grupach wyrażały się w następujący sposób (ms): $1,811 \pm 0,153$ w Naiwnej, $1,756 \pm 0,247$ w CS+UCS i $1,801 \pm 0,147$ w Pseudo. Również pod względem amplitudy szybkich AHPs grupy interneuronów wykazywały podobne wartości ($p=0,2122$), których średnie w grupach mierzyły (mV): $5,16 \pm 0,54$ w Naiwnej; $4,33 \pm 0,45$ w CS+UCS i $4,00 \pm 0,44$ w Pseudo. (ryc. 4.39.d).



Ryc. 4.39. Parametry potencjałów czynnościowych przy maksymalnej częstotliwości wyładowań dla Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Próg wywołania APs był wyższy w grupie Pseudo. w odniesieniu do grupy Naiwnej (One-way ANOVA, $F_{(2, 36)}=3,391$, $p=0,0447$; test Tukey'a, $p=0,0366$). Nie stwierdzono różnic między grupami w: **(b)** amplitudach APs (One-way ANOVA, $F_{(2, 35)}=0,2687$, $p=0,7659$), **(c)** szerokościach połowkowych APs (One-way ANOVA, $F_{(2, 36)}=0,02280$, $p=0,9775$), **(d)** amplitudach szybkich AHPs (One-way ANOVA, $F_{(2, 35)}=1,621$, $p=0,2122$). **(a, c)** Naiwne=13(8), CS+UCS=9(8), Pseudo.=17(17). **(b)** Naiwne=12(8), CS+UCS=9(8), Pseudo.=17(17). **(d)** Naiwne=13(8), CS+UCS=9(8), Pseudo.=16(16).

Analiza stosunku ostatniego interwału względem pierwszego interwału w serii wyładowań nie wykazała różnic w adaptacji wyładowań między badanymi grupami ($p=0,9984$) (ryc. 4.40.b). Średnie wartości adaptacji wynosiły (wart. bezwymiarowa): $2,96 \pm 0,22$ w grupie Naiwnej; $2,95 \pm 0,22$ w CS+UCS i $2,95 \pm 0,19$ w Pseudo.

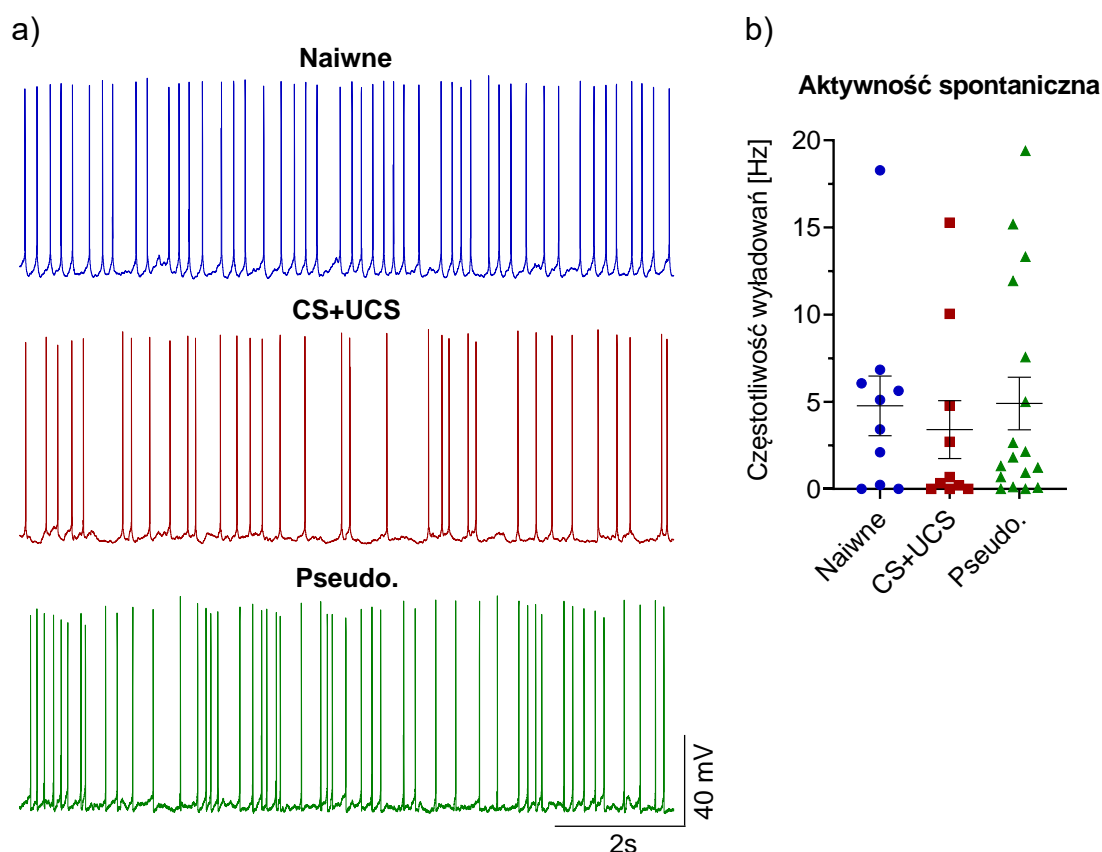
Przeprowadzone pomiary reobazy i potencjału progowego dla APs wskazują na spadek pobudliwości własnej komórek grupy Pseudo. w porównaniu z grupą Naiwną, ale nie CS+UCS. Wyniki analizy parametrów krzywych sigmoidalnych nie stwierdziły różnic w pobudliwości między grupami myszy. Możliwe, że w wyniku pseudowarunkowania dochodzi do subtelnych zmian w dynamice pobudliwości własnej Int-VIP-LTS. Jednak analizy statystyczne nie pozwalają na jednoznaczną interpretację uzyskanych wyników.



Ryc. 4.40. Adaptacja przy maksymalnej częstotliwości wyładowań dla Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Schemat obrazujący wyładowania z zaznaczonymi interwałami między APs. **(b)** Nie zaobserwowano różnic w poziomach adaptacji wyładowań między grupami (One-way ANOVA, $F_{(2,34)}=0,001600$, $p=0,9984$). Naiwne=12(8), CS+UCS=8(7), Pseudo.=17(17).

4.3.10. Brak zmian w aktywności spontanicznej Int-VIP-LTS

W celu systematycznego i kompleksowego zbadania wpływu badanych paradigmatów uczenia na Int-VIP zrealizowano również pomiary i analizę aktywności spontanicznej Int-VIP-LTS. Porównanie częstotliwości aktywności spontanicznej pomiędzy interneuronami ze zwierząt, które przeszły odmienne procedury badawcze, nie ujawniło jednak żadnych różnic ($p=0,5839$) (ryc. 4.41.). Aktywności spontaniczne badanych interneuronów miały następujące średnie częstotliwości (Hz): $4,77 \pm 1,71$ w grupie Naiwnej; $3,40 \pm 1,66$ w CS+UCS i $4,90 \pm 1,51$ w Pseudo.

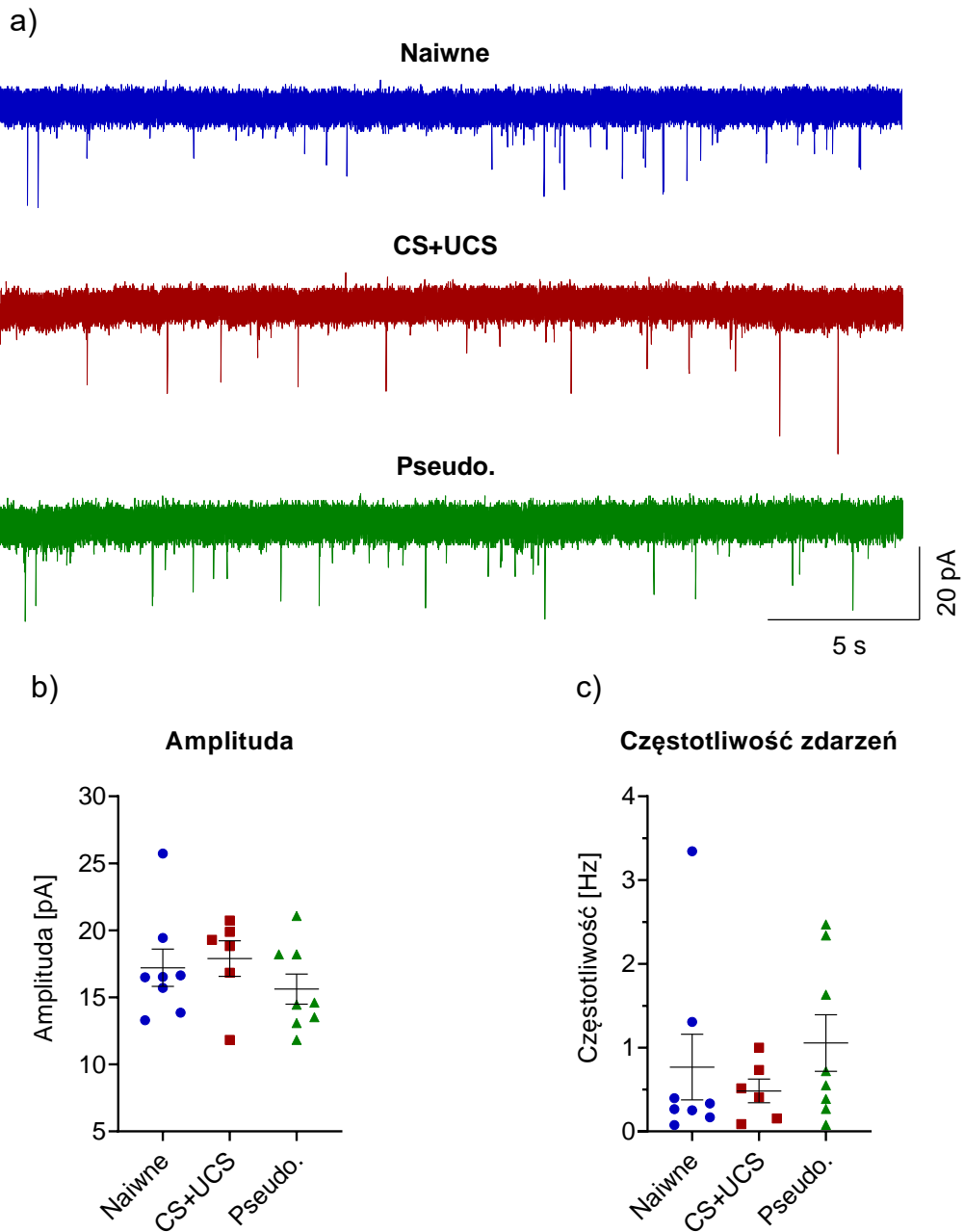


Ryc. 4.41. Aktywność spontaniczna Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Przykładowe aktywności spontaniczne komórek znajdujących się najbliższej średniej populacyjnej dla grupy. (b) Analizowane grupy interneuronów posiadały podobną aktywność spontaniczną (test Kruskal’a-Wallis’a, $p=0,5839$). Naivne=10(7), CS+UCS=10(9), Pseudo.=17(17).

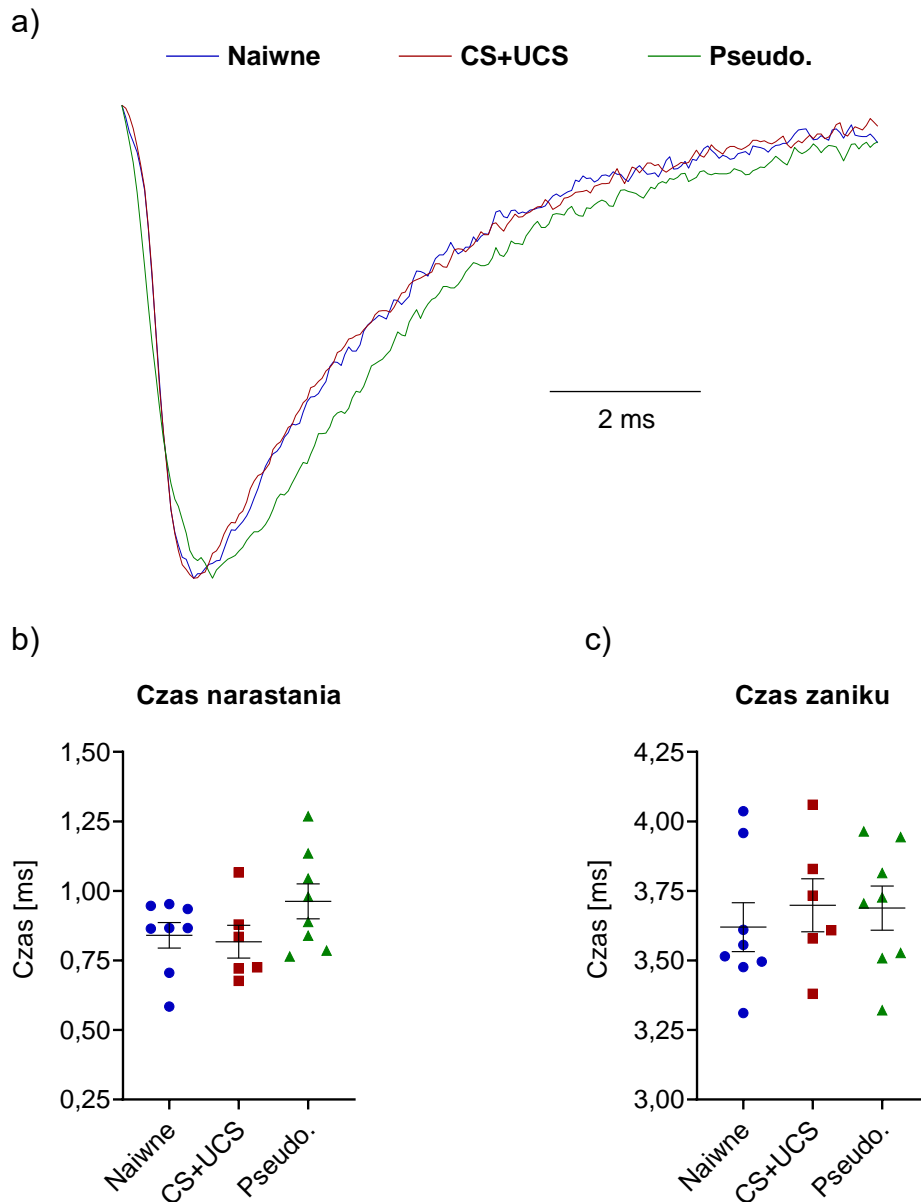
4.3.11. Brak zmian w pobudzającym przekąźnictwie synaptycznym dochodzącym do Int-VIP-LTS

Aby zbadać, czy uczenie ma wpływ na pobudzające przekąźnictwo synaptyczne dochodzące do Int-VIP-LTS dokonano pomiarów sEPSCs w tych komórkach. Analiza ta nie pokazała różnic w amplitudzie sEPSCs między interneuronami pochodzącymi z różnych grup zwierząt ($p=0,3837$) (ryc. 4.42.a, b). Średnia amplituda sEPSCs w grupach prezentowała się następująco (pA): $17,21 \pm 1,39$ w Naivnej; $17,90 \pm 1,33$ w CS+UCS i $15,62 \pm 1,12$ w Pseudo. Podobnie nie stwierdzono istotnych różnic w częstotliwości występowania sEPSCs pomiędzy grupami ($p=0,5068$) (ryc. 4.42.a, c). Średnia częstotliwość nagranych prądów mierzyła (Hz): $0,77 \pm 0,39$ w grupie Naivnej; $0,48 \pm 0,14$ w CS+UCS i $1,06 \pm 0,34$ w Pseudo. Czas narastania sEPSCs również nie różnił się między grupami zwierząt ($p=0,2305$) (ryc. 4.43.a, b). Wartości średnie tego czasu osiągnęły (ms): $0,840 \pm 0,046$ w grupie Naivnej; $0,817 \pm 0,059$ w CS+UCS i $0,963 \pm 0,063$ w Pseudo. Analizowane grupy okazały się również homogenne pod względem czasu

zaniku sEPSCs ($p=0,6311$), którego średnie miary w grupach wyniosły (ms): $3,620 \pm 0,088$ w Naiwne; $3,698 \pm 0,095$ w CS+UCS i $3,688 \pm 0,079$ w Pseudo. (ryc. 4.43.a, c).



Ryc. 4.42. Amplituda i częstotliwość sEPSCs w Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Przykładowe fragmenty rejestracji sEPSCs. Nie stwierdzono różnic między grupami w: **(b)** amplitudzie sEPSCs ($p=0,3837$), **(c)** częstotliwości sEPSCs ($p=0,5068$). **(b, c)** Test Kruskal'a-Wallis'a; Naiwne=8(5), CS+UCS=6(5), Pseudo.=8(8).



Ryc. 4.43. Kinetyka sEPSCs w Int-VIP-LTS w IV warstwie kory baryłkowej dla trzech badanych grup myszy. (a) Otrzymane z pojedynczych komórek przykłady uśrednionych sEPSCs znormalizowane pod względem amplitudy. Liczba zdarzeń: Naiwne=80, CS+UCS=111, Pseudo.=158. Nie stwierdzono różnic między grupami w: **(b)** czasie narastania sEPSCs ($p=0,2305$), **(c)** czasie zaniku sEPSCs ($p=0,6311$). **(b, c)** Test Kruskal'a-Wallis'a; Naiwne=8(5), CS+UCS=6(5), Pseudo.=8(8).

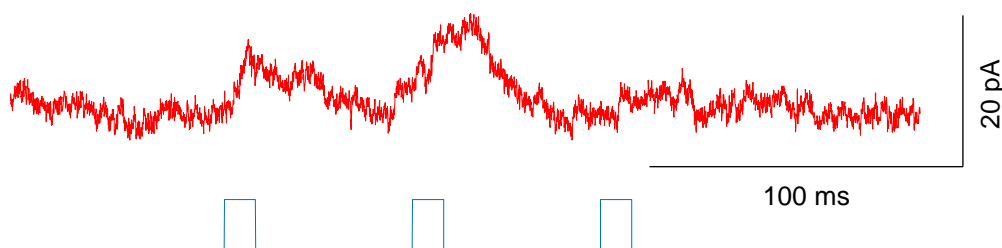
4.3.12. Brak zmian w unerwieniu neuronów pobudzających IV warstwy przez Int-VIP

Obecnie nie ma danych literaturowych, które pokazywałyby, czy neurony pobudzające IV warstwy kory baryłkowej są unerwiane przez Int-VIP. Prawdopodobnie Int-VIP tworzą nieliczne połączenia z komórkami glutaminianergicznymi IV warstwy. Mimo to postanowiono sprawdzić jaka frakcja komórek pobudzających IV warstwy podlega hamowaniu przez Int-VIP. Zdecydowano się również zmierzyć siłę tego

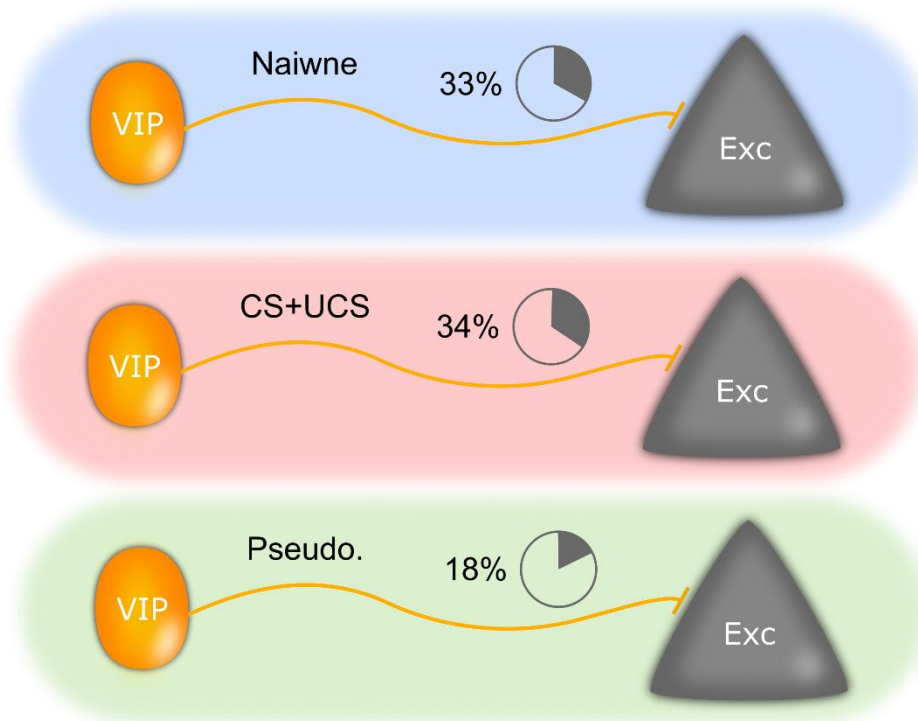
hamowania i zbadać, czy zmienia się ono po warunkowaniu lub pseudowarunkowaniu zwierząt w badanym modelu. W tym celu wykorzystano zwierzęta z ekspresją ChR2 w Int-VIP. W początkowym etapie doświadczeń używano protokołu stymulacji, z jakiego korzystano w trakcie eksperymentów, w których mierzono eIPSCs pochodzące od Int-SOM lub Int-PV (materiały i metody, rozdz. 3.6.2., str. 66.). Stymulacja ta nie generowała jednak w neuronach pobudzających wystarczająco silnych odpowiedzi, niezbędnych do pomiaru transferu ładunku. W obawie, że 0,5 ms plusy stymulacji były niewystarczające, postanowiono stymulować Int-VIP trzema 10 ms pulsami niebieskiego światła w 50 ms odstępach. Taka stymulacja nie doprowadziła jednak do zwiększenia amplitudy rejestrowanych eIPSCs. Z uwagi na powyższe, pomiar transferu ładunku eIPSCs był utrudniony. Zaobserwowano, że wartości amplitud eIPSCs wynosiły około 10 pA, co może oznaczać, że neurony pobudzające IV warstwy kory baryłkowej otrzymują słabe hamowanie od Int-VIP. W związku z tym, postanowiono tylko porównać między grupami zwierząt frakcję komórek pobudzających IV warstwy unerwianych przez Int-VIP. Analizę tę wykonano wyłącznie na podstawie pomiarów z wykorzystaniem protokołu zawierającego 10 ms pulsy stymulacji, aby zachować systematyczności i ze względu na fakt, że nawet przy dłuższych pulsach stymulacji, eIPSCs były widoczne dopiero po uśrednieniu 12 odpowiedzi, jakie nagrywano z każdego neuronu pobudzającego (ryc. 4.44.).

Wyniki analizy pokazują jednak brak istotnych różnic we frakcji (%) komórek pobudzających IV warstwy kory baryłkowej unerwianych przez Int-VIP pomiędzy zwierzętami, które przeszły różne protokoły badawcze ($p=0,2276$) (ryc. 4.45.).

Doświadczenie to pokazuje, że warunkowanie i pseudowarunkowanie nie wpływają na frakcję komórek glutaminianergicznym IV warstwy, która jest unerwiana przez Int-VIP.



Ryc. 4.44. Przykład uśrednionych eIPSCs pochodzących od Int-VIP zarejestrowanych w neuronie pobudzającym IV warstwy kory baryłkowej myszy. Zapis został uśredniony z 12 powtórzeń rejestracji eIPSCs. Na dole przedstawiono trzy 10 ms pulsy niebieskiego światła aktywującego ChR2 w Int-VIP.



Ryc. 4.45. Procent populacji neuronów pobudzających w IV warstwie kory baryłkowej unerwianych przez Int-VIP w trzech badanych grupach myszy. Nie wykazano statystycznie istotnych różnic we frakcji neuronów pobudzających unerwianych przez Int-VIP między trzema badanymi grupami zwierząt (Przedział ufności dla różnicy frakcji sukcesów, $\chi^2=2,9601$, $p=0,2276$). Naiwne=45(17), CS+UCS=35(9), Pseudo.=38(8).

5. Dyskusja

W niniejszej pracy starano się sprawdzić, czy trzy wybrane klasy korowych interneuronów GABAergiczných podlegają zmianom plastycznym w wyniku uczenia asocjacyjnego u myszy. W tym celu zwierzęta poddawano trzydniowej procedurze warunkowania, w której bodziec warunkowy – odgięcie jednego z rzędów wibrys po lewej stronie pyszczka zwierzęcia – był łączony w czasie z bodźcem bezwarunkowym – elektrycznym szokiem w ogon. Druga grupa zwierząt poddana została pseudowarunkowaniu, podczas którego bodziec elektryczny podawany był losowo względem stymulacji wibrys. Ostatnia grupa składała się z myszy naiwnych, które nie zostały poddane żadnej formie manipulacji.

Następnego dnia po ostatniej sesji warunkowania lub pseudowarunkowania uzyskiwano ze zwierząt skrawki mózgu i przeprowadzano rejestracje elektrofizjologiczne z wykorzystaniem techniki *whole-cell patch-clamp*. Wykonywano pomiary elektrofizjologiczne aktywności Int-SOM, Int-PV i Int-VIP znajdujących się w IV warstwie I-rzędowej kory somatosensorycznej w kolumnach reprezentujących rząd manipulowanych wibrys.

Pierwsza część eksperymentów dotyczyła wpływu zastosowanych form uczenia na podstawowe parametry elektrofizjologiczne i pobudliwość własną rejestrowanych interneuronów. W drugiej części doświadczeń sprawdzono, czy uczenie wpływa na pobudzające przekąźnictwo synaptyczne wejść unerwiających poszczególne klasy interneuronów. W trzeciej części zbadano, czy hamowanie neuronów pobudzających przez poszczególne klasy interneuronów GABAergiczných ulega zmianom plastycznym w wyniku uczenia myszy.

5.1. Podstawy plastyczności pobudliwości własnej

Pobudliwość jest to zdolność neuronu do generowania APs w odpowiedzi na dochodzący do komórki impuls pobudzający: z części presynaptycznej albo bezpośrednio bodziec fizyczny ze środowiska – jak np. w przypadku fotoczułych komórek siatkówki. Pobudliwość neuronu jest wypadkową liczby i siły wejść synaptycznych oraz pobudliwości własnej (wewnętrznej) wynikającej z unikalnej kompozycji kanałów jonowych odpowiedzialnych za generowanie APs. W badaniach elektrofizjologicznych pobudliwość własną mierzy się poprzez podanie do wnętrza komórki krótkiego impulsu prądowego o pozytywnej wartości i jednoczesną rejestrację wywołanych w ten sposób APs. Otrzymane dane najczęściej przedstawia się wtedy jako funkcję (krzywą) zależności

częstotliwości wyładowań od zadanego prądu o zwiększającym się natężeniu – jest to tzw. krzywa częstotliwość-prąd (F-I) (materiały i metody, ryc. 3.8., str. 61.).

Pomimo faktu, że pobudliwość własna podlega plastycznym zmianom w wyniku uczenia, a także na skutek innych procesów fizjologicznych mózgu, nie była ona nigdy tak chętnie badana i w takim zakresie jak plastyczność synaptyczna (Yousuf i in., 2020). Przyczyna powyższego stanu rzeczy prawdopodobnie związana jest z rolą jaką przypisuje się obydwu formom plastyczności w kodowaniu informacji. Podczas gdy neuron w korze somatosensorycznej dorosłego szczura posiada średnio ok. 8,8 tys. synaps, z których teoretycznie każda może podlegać plastycznym zmianom, plastyczność pobudliwości własnej rozpatrywana jest najczęściej jako pojedyncza zmienna obejmująca całą komórkę w równym stopniu (Micheva i Beaulieu, 1996). Z tej perspektywy potencjalna pojemność przechowywania informacji w synapsach jest nieporównywalnie większa od zdolności kodowania informacji przez pobudliwość własną całej komórki. Powyższy pogląd, jakoby zmiany plastyczne pobudliwości własnej dotyczyły w równym stopniu całej komórki, nie jest jednak zgodny z danymi eksperymentalnymi. Badania pokazują, że zmiany pobudliwości własnej mogą być przestrzennie specyficzne: obejmować swoim zakresem oddzielne fragmenty trzonu dendrytu, odrębne odgałęzienia tego samego dendrytu, a nawet być swoiste na poziomie kompartmentów dendrytycznych ograniczonych zakresem do jednej synapsy (Frick i in., 2004; Losonczy i in., 2008; Ohtsuki i in., 2012; Yasuda i in., 2003). Dlatego rozdział plastyczności pobudliwości własnej od plastyczności synaptycznej – mimo że praktyczny z naukowego punktu widzenia – nie jest właściwy, gdyż obie formy plastyczności często występują jednocześnie (Shim i in., 2017; J. Xu i in., 2005). Ponadto zmiany w pobudliwości własnej mogą działać dwukierunkowo na plastyczność synaps: utrudniać bądź ułatwiać indukcję LTP (Cohen i in., 1999; Yasuda i in., 2003). Co więcej, biorąc pod uwagę fakt, że pobudliwość własna może być specyficzna względem różnych kompartmentów dendrytycznych, może ona regulować wagę poszczególnych synaps w depolaryzacji komórki (Losonczy i in., 2008; Ohtsuki i in., 2012). Dodatkowo powyższa kompartmentalizacja może sprawiać, że amplituda wstecznego APs nie będzie jednakowo podlegać spadkowi w różnych częściach dendrytu, co może skutkować zróżnicowanym poziomem depolaryzacji, a w dalszej kolejności odmienną aktywacją kanałów wapniowych zależnych od potencjału i heterogennym napływem Ca^{2+} do kolców dendrytycznych – to z kolei teoretycznie może kształtować plastyczność poszczególnych synaps (Frick i in., 2004; Gasparini, 2011; Sourdet i Debanne, 1999).

Zmiany w pobudliwości własnej mogą również prowadzić do modyfikacji procesu przestrzennego sumowania sygnału z różnych synaps (ang. *spatial synaptic summation*) i/lub czasowego sumowania synaptycznego (ang. *temporal synaptic summation*) – mechanizmy te stanowią kolejne sposoby kodowania informacji przez powyższą plastyczność (S. Lee i Kwag, 2012; Magee, 1999; Z. Wang i in., 2003). Czasowe sumowanie synaptyczne jest bezpośrednio związane ze zdolnością neuronu do filtrowania przychodzącej informacji i może posiadać własności filtra górnoprzepustowego (ang. *high-pass filter*) blokującego sygnał o niskiej częstotliwości – stanowi to jeszcze jeden proces przekształcania sygnału i kodowania informacji przez komórkę (Engbers i in., 2012). Ponadto modyfikacja procesu sumowania sygnału z poszczególnych synaps teoretycznie może prowadzić do zjawiska określanego *EPSP-to-spike (E-S) potentiation*. Jest to mechanizm polegający na tym, że wejście synaptyczne, które wywołuje podprogowe EPSP, po zmianach pobudliwości własnej jest zdolne generować AP (Bliss i Lømo, 1973; Daoudal i in., 2002; Daoudal i Debanne, 2003). Powyższy mechanizm zachodzi również w przeciwną stronę i nazywany jest *EPSP-to-spike (E-S) depression* – EPSP zdolne generować AP, po zmianach pobudliwości własnej przestaje być w stanie wywoływać AP (Daoudal i in., 2002; Daoudal i Debanne, 2003). *E-S potentiation* pociąga za sobą zwiększoną czułość komórki, a tym samym prawdopodobnie może zwiększyć dynamiczny zakres odpowiedzi pojedynczego neuronu na przychodzącą stymulację (Pouille i in., 2009). Pobudliwość własna i związane z nią czasowe sumowanie synaptyczne oraz zwiększona czułość na przychodzący sygnał mogą regulować powtarzalność APs generowanych przez pobudzenie lub wzór pobudzenia o określonym natężeniu, a tym samym kontrolować dokładność przekazywanej informacji (Magee, 1999; Pang i Fairhall, 2019; Sourdet i in., 2003). Wzmocnienie czułości poszczególnych kompartmentów dendrytu lub całej komórki może zarazem skutkować wzrostem precyzji czasu wyładowywania się APs (ang. *spike timing*) poprzez zmniejszenie latencji między AP a wywołującym go bodźcem, a także dzięki zmniejszeniu odchylenia standardowego tejże latencji – jest to tzw. *jitter*, im jest ono niższe tym APs są generowane w węższym przedziale czasu (mniejszy „rozrzut”) (Losonczy i in., 2008; Mahon i Charpier, 2012; Sourdet i in., 2003). Co więcej, biorąc pod uwagę kompartmentalizację pobudliwości własnej, dokładność ta może być różna pomiędzy poszczególnymi gałęziami tego samego dendrytu – co będzie miało dodatkowy efekt na kodowanie informacji przez komórkę (Losonczy i in., 2008). Ponadto istotne znaczenie, zarówno dla przetwarzania informacji, jak i dla roli

pobudliwości własnej w regulacji plastyczności synaptycznej, wydaje się mieć szybkość zachodzenia zmian we własnościach elektrycznych błon komórkowych. Niektóre eksperymenty pokazują, że zmiany w pobudliwości błony komórkowej zależą od ostatniej aktywności neuronu i mogą być indukowane nawet w czasie zaledwie 1 min (Tsubokawa i in., 2000; Yasuda i in., 2003). Tak szybkie zmiany mogą być istotne dla procesu przetwarzania informacji – zwiększonej czułości i skróconego czasu odpowiedzi na bodziec z otoczenia oraz dokładności jego kodowania (Mahon i Charpier, 2012). Szybkość zmiany zachodzącej w pobudliwości własnej neuronu może być również istotna dla raptownego obniżenia lub zwiększenia progu indukcji LTP, ułatwiając i przyspieszając w ten sposób zajście plastyczności synaptycznej lub je utrudniając (Yasuda i in., 2003). Powyższe mechanizmy odpowiedzialne za transformację sygnału z wejścia na wyjście dają znacznie większe możliwości kodowania informacji przez pobudliwość własną komórki niż wcześniej przypuszczano. Można powiedzieć, że pobudliwość własna jest wyższym poziomem kodowania informacji niż ten związany z synapsami. Pobudliwość własna wykorzystuje informację synaptyczną i przekształca ją na sygnał związany z wyjściem. Ponadto, jak już wyżej wspomniano, pobudliwość własna wpływa również na niższy poziom kodowania – synaptycznego – regulując łatwość indukcji LTP, jego intensywność i długotrwałość (Cohen i in., 1999; Yasuda i in., 2003). W świetle przytoczonych danych literaturowych niedocnienie roli pobudliwości własnej w kodowaniu informacji zdaje się być poważnym nieporozumieniem.

Znacznie mniejsza uwaga skierowana na badania plastyczności pobudliwości własnej w porównaniu z plastycznością synaptyczną, a także mniejsze zainteresowanie komórkami GABAergicznymi w zestawieniu z komórkami glutaminianergicznymi doprowadziły do sytuacji, w której ogromna większość badań dotyczących pobudliwości własnej odnosi się do komórek pobudzających. Spowodowało to powstanie poważnej luki w naukowej wiedzy dotyczącej pobudliwości własnej komórek GABAergicznych. Aktualnie najwięcej informacji w powyższej tematyce dotyczy prawdopodobnie GABAergicznych komórek Purkiniego. Z kolei dane literaturowe odnoszące się do plastyczności pobudliwości własnej interneuronów GABAergicznych są jeszcze uboższe (Debanne i in., 2019). Z powyższych względów temat podjęty w niniejszej rozprawie wydaje się być ważny dla dalszego rozwoju wiedzy związanej z korowymi interneuronami GABAergicznymi.

Pobudliwość własna neuronów może podlegać zmianom w wyniku uczenia, a także jako pewna forma plastyczności homeostatycznej następować po zwiększonej lub

obniżonej aktywności neuronalnej po deprivacji sensorycznej lub epilepsji (Breton i Stuart, 2009; Kirchheim i in., 2013; Song i in., 2015). Zmiany pobudliwości własnej mogą również być wynikiem przebywania zwierzęcia we wzbogaconym środowisku i korelować z wielkością indukowanego następnie LTP (Malik i Chattarji, 2012). Pobudliwość własna podlega modyfikacji również w wyniku uzależnienia oraz po ekspozycji na czynniki stresowe (Francis i in., 2015; Kourrich i Thomas, 2009; Rau i in., 2015). Różnice dotyczące pobudliwości własnej pojawiają się również po uszkodzeniach i niedokrwieniu ośrodkowego układu nerwowego, ale nie wiadomo czy można postrzegać je jako pewną formę plastyczności naprawczej czy wyłącznie jako szkodliwe następstwo urazu (Y. Fan i in., 2008; Paz i in., 2010).

Zmiany pobudliwości własnej w powyższych sytuacjach wiążą się z dostosowaniem wielu pasywnych, jak i aktywnych cech błony cytoplazmatycznej neuronu. Do pasywnych właściwości błony determinujących pobudliwość własną komórki należą m.in. opór wejściowy i potencjał spoczynkowy błony. Na aktywne własności błony regulujące pobudliwość własną składają się m.in. potencjał progowy wywołania APs, parametry APs, takie jak szerokość połówkowa i amplituda APs oraz amplituda AHPs. Dodatkowym parametrem, od którego zależy pobudliwość własna, jest współczynnik adaptacji wyładowań. Od powyższych własności będzie zależała reobaza, różne parametry krzywej F-I czy wzór wyładowań danej komórki (L. Chen i in., 2020). Aktywne i pasywne własności błony komórkowej podlegają bogatej puli różnego rodzaju kanałów, zależnych od potencjału błonowego, stężenia jonów wapnia, sodu, a także od kanałów prezentujących stałą przepuszczalność dla jonów – tzw. *leak channels* (L. Chen i in., 2020; Frick i Johnston, 2005; Goldstein i in., 2001; Ha i Cheong, 2017; D. Ren, 2011). Również poziom ekspresji i rozmieszczenie w różnych częściach komórki powyższych kanałów może mieć niebagatelne znaczenie w regulacji pobudliwości własnej neuronu (Arnold i in., 2019; Bock i Stuart, 2016; Gasparini, 2011; Guo i in., 2017; Palacio i in., 2017; Varga i in., 2004).

Do kanałów zależnych od potencjału regulujących pobudliwość własną komórek pobudzających należą kanały potasowe, sodowe, wapniowe, a także nieselektywne kanały kationowe HCN (Debanne i in., 2019; Frick i Johnston, 2005). Do selektywnych kanałów potasowych zależnych od potencjału, których rola w kontroli pobudliwość własnej została najlepiej poznana, przynależą kanały z podrodziny K_v1 , K_v4 i $K_v7/KCNQ/M$ (Carrasquillo i in., 2012; Gu i in., 2005; Guan i in., 2013; Rama i in., 2017; Zagha i in., 2010). Także udział zależnych od potencjału kanałów sodowych jest

niezbędny w kontroli pobudliwości własnej (Kress i in., 2010; J. Xu i in., 2005). Również wszystkie typy kanałów wapniowych zależnych od potencjału zaangażowane są w powyższą regulację: L, P/Q, N, R i T (Hernández-López i in., 2000; Kasten i in., 2007; Ovsepian i Friel, 2008; J.-Y. Park i in., 2010; Su i in., 2002). Dodatkowo nieselektywne kanały kationowe HCN przepuszczalne dla jonów K^+ i Na^+ pełnią bardzo ważną funkcję w kontroli pobudliwości własnej neuronów (Arnold i in., 2019; Gu i in., 2005).

Do kanałów aktywowanych przez jony wapnia regulujących pobudliwość własną należą kanały potasowe o niskiej przewodności SK i kanały potasowe o dużej przewodności BK (również zależne od potencjału) oraz kanały chlorkowe CaCC (Bock i in., 2019; Gu i in., 2007; Ha i in., 2016).

Specyficzną klasą kanałów, które wpływają na pobudliwość własną komórek, są kanały potasowe aktywowane zarówno przez jony sodowe, jak i chlorkowe ($K_{Na1.1}/Slack$; także w niewielkim stopniu zależne są od potencjału) (Kaczmarek i in., 2017; Tomasello i in., 2017; Q. Zhang i in., 2022).

Niektóre kanały prezentują konstytutywną aktywność w warunkach fizjologicznych i potencjale spoczynkowym błony. Międzybłonowy prąd, który generują nazywany jest prądem przeciekającym, tła lub bazowym (ang. *leak, background, baseline current*) i odpowiedzialny jest m.in. za regulację oporu wejściowego i potencjału spoczynkowego błony (Honoré, 2007). Do tego typu kanałów należą wyżej wymienione kanały HCN, które częściowo są otwarte przy potencjale spoczynkowym komórki i regulują jej pobudliwość własną (Day i in., 2005; Gu i in., 2005; Meuth i in., 2006). Innym przykładem jest bogata rodzina kanałów potasowych z domeną dwuporową (ang. *two-pore domain potassium channels, K_{2P}*) – głównie kanały tej rodziny odpowiedzialne są za generowanie prądu bazowego i najczęściej kojarzone są z kanałami przeciekowymi (ang. *leak channels*) (Goldstein i in., 2001). Kanały K_{2P} , kontrolując takie parametry jak potencjał spoczynkowy i opór wejściowy błony, trwanie potencjału czynnościowego czy AHPs, regulują tym samym pobudliwość własną neuronu (Deng i in., 2009; K. J. Ford i in., 2013; Weber i in., 2008; Xiao i in., 2009). Również kanały $K_v7/KCNQ/M$ mogą generować niewielki prąd bazowy, gdyż mają stosunkowo niski próg aktywacji (Rivas-Ramírez i in., 2020; H. S. Wang i in., 1998). Także kanały NALCN przepuszczalne dla jonów Na^+ i K^+ , spokrewnione z zależnymi od napięcia kanałami sodowymi i wapniowymi, prezentują typowy prąd bazowy i regulują pobudliwość własną neuronów (Chua i in., 2020; N. C. Ford i in., 2018; B. Lu i in., 2007). Należy zaznaczyć, że także niektóre kanały sodowe zależne od potencjału generują prąd bazowy i w ten

dotatkowy sposób mogą regulować pobudliwość własną neuronów (Aman i in., 2009; Bant i Raman, 2010; Browne i in., 2017). Pobudliwość własna podlega również regulacji poprzez działanie dokomórkowych prostowniczych kanałów potasowych (ang. *inwardly rectifying potassium channels*, Kir), które mogą być stale otwarte (Kir2) lub podlegać aktywacji poprzez ATP lub białko G (Day i in., 2005; Hibino i in., 2010; C. S. Kim i Johnston, 2015; Lemak i in., 2014; Shen i in., 2007; Tanner i in., 2011). Okazuje się, że niektóre przepuszczalne dla kationów kanały z rodziny TRP (ang. *transient receptor potential*) mogą być stale aktywne lub podlegać aktywacji w wyniku szerokiej gamy zewnątrz- i wewnątrzkomórkowych bodźców chemicznych i fizycznych, a tym samym odpowiednio dostosowywać pobudliwość własną komórek (Meis i in., 2007; Risner i in., 2021; Shibasaki i in., 2007; Venkatachalam i Montell, 2007). Najnowsze badania pokazują, że receptory NMDA składające się z podjednostek GluN1/GluN3A są tonicznie aktywne i regulują potencjał spoczynkowy i pobudliwość zarówno neuronów piramidowy, jak i Int-SOM (Bossi i in., 2022).

Powyższe przykłady obrazują od jak bogatej i różnorodnej grupy kanałów zależy pobudliwość własna neuronów. Dodatkowo różnorodna selektywność, przewodność, kinetyka oraz sposób aktywacji i modulacji powyższych kanałów wskazują na bardzo złożony mechanizm regulacji pobudliwości własnej. Aparat ten posiada potencjalnie ogromne możliwości kontroli zarówno natywnego sposobu wyładowania się neuronów, jak i regulacji pobudliwości własnej komórek w odpowiedzi na bodźce przychodzące zarówno z ciała (np. temperatura, pH), jak i ze środowiska.

5.2. Warunkowanie prowadzi do wzrostu pobudliwości Int-SOM-LTS i zwiększenia hamowania neuronów pobudzających przez Int-SOM

Aktywność Int-SOM jest niezbędna zarówno w procesie uczenia i nabywania nowych umiejętności, jaki i w trakcie ekspresji już nabytej umiejętności, a ponadto jest również ważna dla dalszego utrzymania się już wyuczonej czynności, gdy zachodzi nauka nowych (Adler i in., 2019; S. X. Chen i in., 2015; Cummings i Clem, 2020). Eksperymenty z wykorzystaniem licznych modeli uczenia wykazały, że Int-SOM biorą czynny udział w różnych rodzajach uczenia i formowaniu się wielu typów pamięci. Int-SOM współuczestniczą m.in. w warunkowaniu strachu, w tym strachu społecznego, ich aktywność jest niezbędna w zadaniach wymagających roboczej pamięci przestrzennej, pamięci rozpoznawania kontekstowego (ang. *contextual recognition memory*) oraz pamięci rozpoznawania przestrzennego (ang. *spatial recognition memory*),

interneurony te biorą również udział w uczeniu motorycznym, a także podlegają plastycznym zmianom po uczeniu polegającym na rozróżnianiu bodźców wzrokowych (Abbas i in., 2018; Adler i in., 2019; Khan i in., 2018; Morales i in., 2021; Wolff i in., 2014; H. Xu i in., 2019). Mimo stosunkowo szybko rosnącej wiedzy dotyczącej uczestnictwa Int-SOM różnych obszarów mózgu w uczeniu i konsolidacji pamięci nie wiadomo prawie nic odnośnie roli pobudliwość własnej tych komórek w powyższych procesach.

Pobudliwość własna Int-SOM badana jest najczęściej w odniesieniu do epilepsji lub urazowych uszkodzeń mózgu (ang. *traumatic brain injury*), które mogą prowadzić do epilepsji i zwiększać ryzyko wystąpienia innych schorzeń układu nerwowego. Badania na szczurzym modelu chronicznej epilepsji wykazały spadek oporu wejściowego błony Int-SOM hipokampa w polu CA1 oraz wzrost ilości prądu koniecznego do indukcji APs oraz niezbędnego do wywołania wyładowań o częstotliwości równej połowie maksymalnej częstotliwości wyładowań (punkt środkowy krzywej sigmoidalnej) tych komórek (Pothmann i in., 2019). Doświadczenia na mysim modelu ciężkiej padaczki mioklonicznej niemowląt (ang. *severe myoclonic epilepsy of infancy*) ujawniły, że Int-SOM kory somatosensorycznej badanych zwierząt objawiają zwiększone wartości reobazy, progu wyładowań, szerokości i czasu narastania APs oraz zmniejszoną częstotliwość pobudliwości własnej przy większych natężeniach prądu (De Stasi i in., 2016; Tai i in., 2014). W badaniach nad urazowymi uszkodzeniami mózgu wykazano zmniejszony próg wyładowań APs oraz wzrost pobudliwości własnej Int-SOM w obszarze kory motorycznej/somatosensorycznej kontralateralnym do miejsca urazu (Ihbe i in., 2022). Inne badania pokazały, że urazowi kory somatosensorycznej towarzyszy depolaryzacja potencjału spoczynkowego, skrócenie latencji pierwszego AP przy wartościach prądu równym reobazie, wzrost pobudliwości własnej oraz wzrost adaptacji wyładowań w Int-SOM – komórki myszy poddanych urazowi wyładowywały się z szybszą częstotliwością na początku depolaryzującego pulsu prądowego niż neurony zwierząt kontrolnych (Harris i in., 2022). Zmiany dotyczące pobudliwości własnej Int-SOM zaobserwowano również w innych modelach badawczych. Badania na myszach obejmujące studia nad schorzeniami neurodegeneracyjnymi wykazały zdepolaryzowane wartości potencjału spoczynkowego błony i zwiększoną pobudliwość Int-SOM w I-rzędowej korze motorycznej chorych myszy (W. Zhang i in., 2016). Studia nad zaburzeniami ze spektrum autyzmu ujawniły, że unieczynnienie w Int-SOM genu *Foxg1*, którego mutacja związana jest z nieprawidłowym rozwojem układu nerwowego,

proceeds to an increase in the number of cells, a decrease in the amplitude of AHPs and excitability of the neurons in the II/III layer of the cortex, and is associated with a disturbed ratio of the number of cells to the number of AHPs (D. Chen et al., 2019). Other studies have shown that induction of increased excitability of Int-SOM in different areas of the mouse brain, through genetic inactivation in the excitatory cells of the $\gamma 2$ receptor $GABA_A$, has anxiolytic and antidepressant properties (Fuchs et al., 2017). It has been demonstrated that social isolation in young mice leads to changes in behavior in adulthood, which is associated with an increase in the excitability of Int-SOM-LTS in the prefrontal cortex (Yamamoto et al., 2020). Further studies investigating the effect of psychoactive substances on the mouse brain showed that administration of morphine increases the excitability of Int-SOM in the prefrontal cortex, while administration of cocaine increases the number of Int-SOM cells and decreases the excitability of Int-SOM cells located in the nucleus accumbens (C. Jiang et al., 2021; Ribeiro et al., 2018). Other studies have shown that a decrease in the excitability of Int-SOM in the first-order somatosensory cortex of mice through reduction of the current generated by NMDA receptors composed of subunits GluN1/GluN3A has an effect on the activity of the local network and changes in that activity, at the moment when the immobile mouse begins to move (Bossi et al., 2022).

Only a few studies report changes in the excitability of Int-SOM resulting from learning. It has been demonstrated that learning of a new taste (ang. *novel taste learning*) in mice leads to an increase in the amplitude of mAHPs (ang. *medium AHP*) after a series of taste tests and a decrease in the excitability of Int-SOM in the anterior insular cortex (ang. *anterior insular cortex*) (Gould et al., 2021). In addition, a study of mRNA degradation of chinonin 2 in Int-SOM (no statistically significant decrease in mRNA), whose activity influences the excitability of the excitatory cells, led to improved memory of a new taste in mice. These results suggest that a decrease in the excitability of Int-SOM in the anterior insular cortex positively influences the formation of memory of a new taste (Gould et al., 2021). Studies using trace eyeblink conditioning (ang. *trace eyeblink conditioning*) in mice showed that during learning, a decrease in the amplitude of AHPs and a simultaneous increase in the excitability of Int-SOM in the CA1 hippocampus (McKay et al., 2013). Results of other studies allowed to confirm that induction of LTP in Int-SOM in the CA1 hippocampus is associated with an increase in the excitability of these cells (Sammari et al., 2022).

Dodatkowo w tych samych komórkach można zaindukować również LTD, które ma miejsce wraz ze spadkiem pobudliwości własnej (Incontro i in., 2021). Współwystępowanie LTP/LTD ze wzrostem/spadkiem pobudliwości własnej Int-SOM sugeruje, że modyfikacje parametrów błony w powyższych komórkach mogą dodatkowo wzmacniać kierunek zmian synaptycznych poprzez wpływ na funkcję wejście/wyjście, a przez to być istotne w procesach związanych z uczeniem. Eksperymenty na mysiej korze przedczołowej udowodniły wzrost pobudliwości własnej (prezentowanej jako spadek reobazy) w populacji Int-SOM aktywowanych w wyniku warunkowania strachu – interesujące jest, że powyższe zmiany obserwowano jedynie u samców (Cummings i in., 2022). Wzrost pobudliwości własnej Int-SOM w korze przedczołowej obserwowano również po dootrzewnowym podaniu morfiny. Int-SOM tej części kory odpowiedzialne są prawdopodobnie za kodowaniem pamięci związanej z pozytywnymi bodźcami (Cummings i in., 2022). Inne doświadczenia sugerują również, że zwiększona pobudliwość Int-SOM w korze przedczołowej myszy może częściowo mieć wpływ na warunkowanie preferencji miejsca poprzez podawanie morfiny w wybranej części klatki (C. Jiang i in., 2021).

W niniejszej pracy doktorskiej wykazano, że prosty model uczenia asocjacyjnego u myszy prowadzi do wzrostu pobudliwości własnej Int-SOM o wzorze LTS w IV warstwie kory baryłkowej (ryc. 4.3–4.5.). Zwiększonej pobudliwości towarzyszył spadek amplitudy i zmniejszenie szerokości połówkowej APs (ryc. 4.6.b, c). Zmiany w parametrach elektrofizjologicznych APs sugerują molekularne podłoże rejestrowanych zmian pobudliwości własnej. Pewne matematyczne modele neuronów wskazują, że ze wzrostem amplitudy APs wiąże się zwiększone przewodnictwo kanałów przepuszczalnych dla Na^+ i kanałów wapniowych typu T (Varela i in., 2012). To, że wielkość amplitudy APs jest ściśle kontrolowana przez różne kanały sodowe zależne od potencjału potwierdzają doświadczenia *in vitro* (Harty i Waxman, 2007). Wiadomo także, że kanały potasowe zależne od potencjału decydują o rozmiarach amplitudy APs (Sánchez-Aguilera i in., 2020). Zmiany amplitudy APs przy jednoczesnym braku różnic w potencjale spoczynkowym mogą świadczyć najprawdopodobniej o zmianach w liczbie/proporcji powyższych kanałów lub modyfikacji ich kinetyki – tempie aktywacji i dezaktywacji. Badania pokazują, że kanały potasowe zależne od potencjału ($\text{K}_{\text{v}3.2}$) odpowiedzialne są za regulację szerokości APs w komórkach pobudzających wzgórza, a ich chemiczne zablokowanie lub genetyczna inaktywacja zmniejsza pobudliwość komórek (Kasten i in., 2007). Kanały $\text{K}_{\text{v}3.2}$ występują również w części korowych

Int-SOM i najprawdopodobniej pełnią podobną funkcję (Chow i in., 1999). W komórkach pobudzających wzgórza szerokość APs regulują również kanały $K_v7/KCNQ/M$ (Kasten i in., 2007). Prąd związany z tymi kanałami zwiększa się po elektrycznie zaindukowanym spadku pobudliwości własnej w Int-SOM hipokampa (Incontro i in., 2021). Natomiast zablokowanie w tych interneuronach powyższych kanałów skutkuje zwiększeniem pobudliwości własnej (Lawrence i in., 2006). Co więcej, elektrycznie zaindukowanemu wzrostowi pobudliwości własnej Int-SOM hipokampa towarzyszy spadek prądu kanałów $K_v7/KCNQ/M$ w tych komórkach (Sammari i in., 2022). Również matematyczne modele Int-SOM hipokampa wskazują, że kanały $K_v7/KCNQ/M$ decydują o czasie pomiędzy poszczególnymi wyładowaniami (Lawrence i in., 2006). Stąd za wzrost pobudliwości własnej Int-SOM-LTS w wyniku warunkowania może być odpowiedzialne zwiększone natężenie prądu kanałów $K_v3.2$ i obniżona wielkość prądu pochodząca od $K_v7/KCNQ/M$. Jednak ze względu na stosunkowo rzadkie występowanie $K_v3.2$ w korowych Int-SOM bardziej prawdopodobne jest to, że za zwiększenie pobudliwości Int-SOM-LTS IV warstwy kory baryłkowej zachodzące po warunkowaniu myszy głównie odpowiedzialne są kanały $K_v7/KCNQ/M$ (Chow i in., 1999).

Interesujący jest fakt, że zwiększona pobudliwość własna nie wpłynęła w znaczącym stopniu na aktywność spontaniczną rejestrowanych komórek (ryc. 4.8.). Być może jest to efekt bliżej niesprecyzowanych mechanizmów plastyczności homeostatycznej, które równoważą wzrost pobudliwości własnej Int-SOM-LTS w grupie warunkowanych zwierząt, a także zwiększoną amplitudę sEPSCs dochodzących do tych komórek (ryc. 4.9.a, b). Wzrost pobudliwości Int-SOM-LTS zwierząt poddanych warunkowaniu występował wraz ze wzrostem amplitudy sEPSCs rejestrowanych w tych interneuronach oraz szybszym czasem narastania i zaniku tych prądów (ryc. 4.9.a, b; 4.10.). Zwiększona amplituda świadczy o tym, że komórki te są silniej pobudzone przez lokalne neurony glutaminianergiczne. Natomiast szybszy czas narastania i zaniku sEPSCs sugeruje, że warunkowanie skutkuje wzrostem dokładności tego pobudzenia. Powyższe wyniki dowodzą, że wykorzystywany model uczenia asocjacyjnego indukuje zarówno zmiany w pobudliwości własnej Int-SOM-LTS, jak również wpływa na wejścia pobudzające tych komórek. Obydwie formy zmian plastycznych mogą zachodzić synchronicznie w korowych Int-SOM-LTS, tak jak to ma miejsce w Int-SOM hipokampa podczas indukcji LTP lub LTD (Incontro i in., 2021; Sammari i in., 2022). Wzrost pobudzenia korowych Int-SOM obserwowano po uczeniu asocjacyjnym myszy w innych modelach, ale był on związany ze zwiększoną częstotliwością sEPSCs, a nie z amplitudą

jak w prezentowanych wynikach (Cummings i in., 2022; Cummings i Clem, 2020). Wzrost amplitudy i szybsza kinetyka sEPSCs mogą wynikać ze zmian w przewodnictwie receptorów AMPA i/lub NMDA oraz ich składzie podjednostkowym. Wzrost amplitudy może mieć również źródło presynaptyczne i wynikać z ilości uwalnianego glutaminianu. W szurzej korze somatosensorycznej indukcja LTP lub LTD połączeń pobudzających na komórkach LTS (domniemane Int-SOM) ma najprawdopodobniej źródło presynaptyczne (J. Lu i in., 2007). Również badania z wykorzystaniem uczenia asocjacyjnego u myszy wskazują na wzrost prawdopodobieństwa uwalniania glutaminianu w synapsach tworzonych na Int-SOM kory przedczołowej (Cummings i in., 2022; Cummings i Clem, 2020). Niewykluczone jest, że na wynikającą z uczenia modyfikację sEPSCs ma częściowo wpływ zmiana w pobudliwości własnej badanych interneuronów, która może regulować sumowanie synaptyczne i przewodnictwo dendrytyczne. Byłoby to również zgodne z koncepcją, że to głównie $K_v7/KCNQ/M$ zaangażowane są w obserwowane zmiany pobudliwości, gdyż również te kanały mogą zwiększać amplitudę odpowiedzi synaptycznej i ich sumowanie (S. Lee i Kwag, 2012). Możliwe jest również, że za zmiany dotyczące sEPSCs w Int-SOM-LTS częściowo odpowiedzialna jest pobudliwość neuronów pobudzających, ponieważ rejestracje sEPSCs mogą zawierać prądy zależne i niezależne (miniaturowe) od AP (Bekisz i in., 2010). Uzyskane wyniki wymagają dalszych analiz i eksperymentów, w których wykonana byłaby rejestracja miniaturowych EPSCs.

Wykonane doświadczenia optogenetyczne wykazały zwiększone hamowanie komórek pobudzających warstwy IV kory baryłkowej przez Int-SOM po warunkowaniu (ryc. 4.11.). Wyniki te sugerują, że związany z uczeniem wzrost pobudliwości własnej Int-SOM-LTS może mieć wpływ na zwiększone hamowanie synaptyczne komórek pobudzających IV warstwy kory baryłkowej przez Int-SOM. Wzrost hamowania komórek pobudzających przez Int-SOM mógł być także spowodowany zwiększoną siłą synaps hamujących. Zwiększone hamowanie komórek pobudzających przez Int-SOM może pełnić jedną z dwóch funkcji. Hamowanie to może być elementem plastyczności homeostatycznej – pełnić stabilizującą rolę i zapobiegać zbyt wzmożonej aktywności komórek pobudzających, która w innym wypadku skutkowałaby aktywnością epileptyczną (Le Roux i in., 2008). Zwiększone hamowanie pochodzące od Int-SOM może też prowadzić do dokładniejszego przekazywania informacji między komórkami pobudzającymi poprzez zwiększenie precyzji czasu ich wyładowań (Włodarczyk i in., 2013).

Powyższe wyniki stanowią kolejny dowód potwierdzający udział Int-SOM w uczeniu asocjacyjnym i faktu, że komórki te podlegają plastycznym zmianom w wyniku uczenia. Poprzednie badania bazujące na wykorzystywanym w niniejszej pracy modelu uczenia wykazały, że warunkowanie wiąże się ze zwiększoną gęstością komórek, w których współwystępowały SOM i dekarboksylaza glutaminianowa 67 w baryłkach odpowiadających manipulowanym wibrysom (Cybulska-Kłosowicz i in., 2013). Wskazuje to na wzrost aktywności Int-SOM następujący po procesie uczenia. Najnowsze badania wykazały, że Int-SOM w IV warstwie kory baryłkowej są niezbędne w procesie uczenia w stosowanym modelu (Dobrzanski i in., 2022). Wyniki prezentowane w niniejszej pracy stoją w zupełnej zgodzie z wcześniej opublikowanymi analizami, a ponadto poszerzają wiedzę o aspekt elektrofizjologiczny.

5.3. Pseudowarunkowanie prowadzi do spadku pobudliwości Int-PV

Int-PV stanowią dominującą klasę komórek GABAergicznym w korze, głównie hamują komórki glutaminianergiczne oraz posiadają charakterystyczny wzór wyładowań (Pfeffer i in., 2013; Tremblay i in., 2016). Powyższe cechy sprawiły, że to właśnie Int-PV były w przeszłości i są obecnie najchętniej i najczęściej studiowaną klasą komórek GABAergicznym. Dzięki temu aktualnie wiemy, że Int-PV biorą udział w wielu formach uczenia i pamięci. Aktywność Int-PV hipokampa związana jest między innymi z przestrzenną pamięcią roboczą i pamięcią dotyczącą rozpoznawania znanego obiektu (ang. *recognition memory*) (Tian i in., 2017; Yi i in., 2014). Int-PV hipokampa uczestniczą w uczeniu przestrzennym i formowaniu długotrwałej pamięci przestrzennej (Donato i in., 2013; Lipina i in., 2016). Z kolei Int-PV prążkowiec biorą udział w uczeniu motorycznym i wczesnym etapie pozytywnego uczenia asocjacyjnego (B. Kim i Im, 2021; K. Lee i in., 2017). Ponadto Int-PV różnych struktur mózgu uczestniczą w awersyjnym uczeniu asocjacyjnym (Carlén i in., 2012; R. Li i in., 2022; Wolff i in., 2014). Int-PV odpowiadają też za uczenie związane z habituacją oraz za pamięć strachu zależną od kontekstu (Carlén i in., 2012; Ognjanovski i in., 2017, 2018; Xia i in., 2017). Aktywność Int-PV kory oczodołowo-czołowej (ang. *orbitofrontal cortex*) jest niezbędna dla prawidłowego uczenia związanego ze zmianą asocjacji między nagrodą a dwoma bodźcami o tej samej modalności zmysłowej (ang. *rule reversal learning*) – wcześniej „nagradzany” bodziec przestaje być wzmacniany, natomiast drugi poprzednio neutralny zaczyna być łączony z nagrodą (Goodwill i in., 2018). Ciekawy jest fakt, że myszy pozbawione receptorowej kinazy tyrozynowej ErbB4 w Int-PV radzą sobie lepiej

w powyższym typie uczenia (Y. Xu i in., 2022). Z kolei Int-PV części przyśrodkowej kory czołowej uczestniczą w uczeniu polegającym na zmianie asocjacji między nagrodą a dwoma bodźcami o różnych modalnościach zmysłowych (ang. *rule shift learning*) (Cho i in., 2020; Goodwill i in., 2018).

Zmiany w pobudliwości własnej Int-PV wykazano w wielu modelach doświadczalnych obejmujących m.in. uraz mózgu, epilepsję, autyzm, schizofrenię, choroby neurodegeneracyjne, uzależnienia oraz wpływ różnego typu neuromodulatorów regulujących aktywność Int-PV (Campanac i Hoffman, 2013; Cao i in., 2018; Cea-del Rio i in., 2010; Cousineau i in., 2020; del Pino i in., 2013; Holley i in., 2019; Kang i in., 2022; Olah i in., 2022; Tai i in., 2014).

Badania dotyczące roli pobudliwości własnej Int-PV w uczeniu i formowaniu się pamięci są znacznie obszerniejsze niż w przypadku Int-SOM czy Int-VIP, mimo to powyższy temat nadal stanowi znikomo poznany aspekt neurobiologii. Wiele przeprowadzonych badań jedynie marginalnie porusza temat pobudliwości własnej przy okazji innych zagadnień neurobiologicznych. Nieliczne są prace gruntownie badające pobudliwość własną Int-PV w kontekście uczenia i formowania pamięci. Większość dotychczas opublikowanych prac pozwala jedynie na niepewne wnioskowanie o roli pobudliwości własnej Int-PV w uczeniu i konsolidacji pamięci.

Dotychczas wykazano, że pozbawienie Int-PV kinazy syntazy glikogenu 3 β prowadzi do depolaryzacji potencjału spoczynkowego, zmniejszenia reobazy oraz zwiększenia oporu wejściowego błony i częstotliwości wyładowań w odpowiedzi na zadany prąd (Monaco i in., 2020). Zaobserwowanym zmianom pobudliwości Int-PV kory przedczołowej towarzyszyło szybsze nabycie przez zwierzęta umiejętności wykonywania zadania w labiryncie T (Monaco i in., 2020). Inne badania ujawniły, że wysokoczęstotliwościowa stymulacja aksonów komórek cholinergicznym w hipokampie przy jednoczesnej obecności inhibitora esterazy cholinowej, jak również samo podanie muskaryny, jest w stanie zwiększyć pobudliwość Int-PV pola CA1 hipokampa (Cea-del Rio i in., 2010). Dowiedziono również, że Int-PV pola CA1 hipokampa pozbawione receptora muskarynowego 1 cechują się obniżoną pobudliwością własną (Yi i in., 2014). Natomiast myszy nieekspresujące powyższego receptora w Int-PV wykazują pogorszoną pamięć roboczą oraz słabszą pamięć związaną z rozpoznawaniem znanego obiektu (Yi i in., 2014). Poza tym Int-PV grzbietowej części hipokampa pozbawione brewikanu (ang. *brevican*) – składnika sieci perineuronalnych – charakteryzują się znacznie osłabioną pobudliwością własną. Myszy z tak zmienionymi Int-PV odznaczają

się osłabioną przestrzenną pamięcią krótkotrwałą (Favuzzi i in., 2017). Z kolei myszy z nadekspresją genu *C4* w komórkach piramidowych II/III warstwy kory przedczołowej prezentują m.in. zmniejszoną gęstość kolców dendrytycznych i zmniejszoną transmisję GABAergiczną (Druart i in., 2021). Zwierzęta te wykazują także pogorszenie pamięci roboczej oraz spadek oporu wejściowego i pobudliwości własnej w Int-PV II/III warstwy kory przedczołowej (Druart i in., 2021). Możliwe, że tak jak w przypadku obniżonej pobudliwości Int-PV hipokampa również zmniejszona pobudliwość Int-PV kory przedczołowej odpowiada w pewnym zakresie za pogorszenie pamięci u badanych zwierząt (Druart i in., 2021; Favuzzi i in., 2017). Badania dotyczące inhibitorów wychwyty zwrotnego serotoniny pokazały, że pobudliwość własna Int-PV V warstwy kory prelimbiczej może mieć znaczenie dla pamięci roboczej i pamięci społecznej/rozpoznawania społecznego u myszy (ang. *social recognition test*) (W. Yu i in., 2019). Ponadto w doświadczeniach z warunkowaniem preferencji miejsca przez podanie myszom etanolu wykazano, że uczenie to związane jest ze spadkiem pobudliwości Int-PV w korze przedczołowej (Ferranti i in., 2022). Interesujące wyniki pokazują również doświadczenia z warunkowaniem preferencji miejsca przez podanie szczurom kokainy. Badania te wykazały, że reaktywacja pamięci związanej z kokainą prowadzi do spadku pobudliwości Int-PV kory przedczołowej mierzonej 30 min i 2 h po reaktywacji, a po 24 h wraca do stanu wyjściowego (Jorgensen i in., 2021). Zmianom tym towarzyszyło wydłużenie czasu pomiędzy pierwszymi dwoma APs oraz czasu trwania AHPs (Jorgensen i in., 2021). Eksperymenty te wskazują na to, że Int-PV kory przedczołowej mogą być odpowiedzialne za kodowanie pamięci lub przynajmniej uczestniczą w jej ekspresji. Sugerują również, że pobudliwość własna Int-PV może mieć znaczenie w powyższych procesach. Doświadczenia, w których podawano szczurom metamfetaminę, pokazały, że powyższe działanie prowadzi prawdopodobnie do pogorszenia krótkotrwałej pamięci przestrzennej mierzonej po odstawieniu narkotyku (Armenta-Resendiz i in., 2022). Szczury poddane działaniu metamfetaminy wykazywały podwyższoną pobudliwość Int-PV w niższych warstwach kory przedlimbiczej. Chemogenetyczne obniżenie aktywności Int-PV kory przedlimbiczej szczurów poddanych wcześniejszemu działaniu metamfetaminy prowadziło do unormowania się krótkotrwałej pamięci przestrzennej tych zwierząt (Armenta-Resendiz i in., 2022). Sugeruje to, że pobudliwość własna Int-PV kory przedlimbiczej może odgrywać pewną rolę w prawidłowym funkcjonowaniu krótkotrwałej pamięci przestrzennej. Badania na myszach, u których modelowano objawy schizofrenii w dorosłym wieku, wykazały, że

zwierzęta te prawdopodobnie cechują się osłabioną pamięcią związaną z warunkowaniem strachu (Ju i in., 2019). Jednocześnie w korze przedczołowej tych myszy zaobserwowano zwiększoną pobudliwość własną interneuronów z wyładowaniami typu *fast-spiking*, co wskazuje, że dla prawidłowego uformowania się długotrwałej pamięci asocjacyjnej może być wymagana odpowiednia pobudliwość Int-PV (Ju i in., 2019). Doświadczenia analizujące wpływy mutacji genu *CACNA1A* kodującego podjednostkę $\alpha 1$ kanału wapniowego zależnego od potencjału $Ca_v2.1$ pokazują częściowo, że pobudliwość własna Int-PV kory przedczołowej może mieć znaczenie w regulacji uwagi i funkcji poznawczych, a w konsekwencji wpływać na procesy uczenia (Lupien-Meilleur i in., 2021). Chemogenetyczna aktywacja Int-PV posiadających zmutowany allel genu *CACNA1A* prowadziła do zwiększonej spontanicznej aktywności powyższych komórek, a także do wzrostu ich pobudliwości własnej, co wywierało pozytywny wpływ na zdolności poznawcze myszy posiadających mutację genu *CACNA1A* (Lupien-Meilleur i in., 2021). Z kolei badania na mysim modelu zespołu Downa wykazały całkowicie zmienioną krzywą F-I Int-PV II/III warstwy kory przedczołowej, a także różnice w innych parametrach związanych z pobudliwością własną tych komórek (Zorrilla de San Martin i in., 2020). Duże zaburzenia w pobudliwości własnej Int-PV u myszy obciążonych powyższą wadą genetyczną mogą być jedną z przyczyn pogorszonych wyników w testach związanych z uczeniem i pamięcią (Demas i in., 1998; Wenger i in., 2004). Co więcej, wywołany elektryczną stymulacją wzrost pobudliwości własnej Int-PV pola CA1 hipokampa pozytywnie wpływa na częstość wyładowań tych komórek w paśmie gamma (Campanac i in., 2013). Natomiast zablokowanie kanałów odpowiedzialnych za bazowy prąd sodowy w Int-PV i komórkach pobudzających pola CA1 hipokampa powoduje wzrost reobazy i spadek pobudliwości obu typów komórek, co ma negatywny wpływ na oscylacje w paśmie gamma (Kang i in., 2020). Jednocześnie wiadomo, że wyładowania o częstotliwości gamma pełnią ważną funkcję w procesach formowania się pamięci, a Int-PV mają istotne znaczenie w indukcji i sile korowych i hipokampalnych rytmów w tym paśmie (Carlén i in., 2012; X. He i in., 2021). Teoretycznie zwiększenie pobudliwości własnej Int-PV pola CA1 w pozytywny sposób może wpływać na uczenie i konsolidację pamięci poprzez regulację wyładowań w paśmie gamma. Jednak inne badania pokazują, że chemogenetyczne zwiększenie aktywności i pobudliwości własnej Int-PV pola CA1 hipokampa prowadzi do pogorszenia pamięci przestrzennej u myszy, którym aktywowano powyższe interneurony podczas uczenia, a także przez 3 tygodnie

poprzedzające uczenie (Hijazi i in., 2020). Interesujący jest natomiast fakt, że myszy, którym aktywowano Int-PV przez okres 3 tygodni, po upływie kolejnych 8 tygodni wykazywały zwiększoną pobudliwość Int-PV, jak i komórek piramidowych. Oprócz tego zwierzęta te odznaczały się lepszą pamięcią przestrzenną niż osobniki kontrolne (Hijazi i in., 2020). Sugeruje to, że zwiększona pobudliwość własna Int-PV i komórek piramidowych pola CA1 hipokampa może pozytywnie wpływać na pamięć przestrzenną, jednak możliwe jest to tylko w sytuacji, gdy wzrostowi pobudliwości interneuronów towarzyszy podwyższenie pobudliwości komórek piramidowych – prawdopodobnie zapewniając w ten sposób równowagę pomiędzy pobudzeniem a hamowaniem. Wykazano również, że indukowane podaniem lipopolisacharydu zapalenie tkanki nerwowej mózgu prowadzi do spadku reobazy oraz wzrostu oporu wejściowego błony i pobudliwości własnej interneuronów typu *fast-spiking* kory przedczołowej (Feng i in., 2021). Ciekawe jest to, że u myszy, którym podano lipopolisacharyd, udział w teście rozpoznawania nowego obiektu powodował aktywację większego odsetka Int-PV części prelimbiczej kory przedczołowej niż u myszy kontrolnych (Feng i in., 2021). Powyższe wyniki sugerują, że to wzrost pobudliwości własnej Int-PV mógł być częściowo zaangażowany w ich zwiększoną aktywację podczas testowania pamięci. Doświadczenia te wskazują również, że pobudliwość własna Int-PV kory przedczołowej może być zaangażowana w kodowanie pamięci i teoretycznie determinować, które komórki staną się częścią nowoutworzonych engramów.

Wyniki zaprezentowane w niniejszej pracy doktorskiej wykazały, że warunkowanie myszy nie powoduje zmian w pobudliwości własnej Int-PV IV warstwy kory baryłkowej mierzonej po 24 h od ostatniej sesji treningowej (ryc. 4.15–4.17.). Warunkowanie również nie prowadziło do zmian w podstawowych parametrach elektrofizjologicznych Int-PV (ryc. 4.14.). Wynik ten wskazuje najprawdopodobniej na brak roli pobudliwość własnej powyższych komórek w zastosowanym modelu uczenia asocjacyjnego. Dotychczasowe badania również nie stwierdziły, aby dochodziło do zmian plastycznych Int-PV IV warstwy kory baryłkowej w stosowanym w niniejszej pracy modelu uczenia warunkowego – nie wykazano zmian w ich pobudliwości własnej, potencjale spoczynkowym, oporze wejściowym ani różnic w gęstości komórek zawierających PV/dekarboksylazę glutaminianową 67 (Bekisz i in., 2010; Siucinska i Kossut, 2006; Tokarski i in., 2007). Reasumując, uzyskane wyniki stoją w zgodzie z wcześniej opublikowanymi danymi.

W grupie zwierząt pseudowarunkowanych zaobserwowano natomiast nieoczekiwany spadek pobudliwości własnej Int-PV IV warstwy kory baryłkowej (ryc. 4.15–4.17.), któremu towarzyszyło zmniejszenie oporu wejściowego błony (ryc. 4.14.). Być może spadek pobudliwości własnej w skutek pseudowarunkowania jest efektem pewnej formy uczenia nieasocjacyjnego, rodzajem habituacji na nieistotną informację – powtarzalną stymulację sensoryczną wibrys. Wiadomo, że zarówno Int-PV, jak i Int-SOM pierwszorzędowej kory słuchowej podlegają stosunkowo szybkiej adaptacji na powtarzający się sygnał dźwiękowy i regulują aktywność komórek pobudzających w tym obszarze w odpowiedzi na bodziec występujący rzadko i często (Natan i in., 2015). Badania na myszach, których Int-PV pozbawione były podjednostki GluN1 receptora NMDA, pokazały, że zwierzęta te podlegają gorszej habituacji na dźwięk o wysokim natężeniu niż zwierzęta kontrolne – nie uczyły się, że dźwięk nie niesie ze sobą zagrożenia (Carlén i in., 2012). Również w IV warstwie kory baryłkowej dochodzi do pewnej formy adaptacji na stymulację w postaci wysokoczęstotliwościowego uginania wibrysy, ma to miejsce zarówno w komórkach pobudzających, jak i neuronach GABAergicznym – najprawdopodobniej Int-PV (Khatri i Simons, 2006). Interesujące jest, że szybka adaptacja sensoryczna zależy od stanu, w którym znajduje się zwierzę, dominuje w stanie spoczynku, a jej poziom słabnie podczas pobudzenia, np. w trakcie uczenia (Castro-Alamancos, 2004). Natomiast kiedy zwierzę nauczy się sprawnie wykonywać zadanie, adaptacja sensoryczna przedstawia silny poziom jak podczas stanu niskiej czujności (Castro-Alamancos, 2004). Inne doświadczenia, w których wibrysy poddawano przedłużonej stymulacji, pokazały, że adaptacji nie towarzyszą zmiany w potencjale spoczynkowym, oporze wejściowym błony ani pobudliwości własnej neuronów kory baryłkowej – większość z tych komórek była pobudzająca i pochodziła z warstwy II-IV (Chung i in., 2002). Nie wiadomo więc, czy szybka adaptacja sensoryczna ma wpływ na parametry własne Int-PV. Należałoby jednak sprawdzić, czy obserwowany spadek pobudliwości własnej Int-PV jest jedynie prostą formą długo utrzymującej się habituacji na powtarzający się, nieniosący informacji bodziec, czy jest to jednak bardziej złożony proces uczenia nieasocjacyjnego. W tym celu konieczne byłoby porównanie pobudliwości własnej komórek zwierząt pseudowarunkowanych z rejestracjami ze zwierząt, które otrzymały jedynie samą stymulację wibrysy bez szoku elektrycznego w ogon.

Pseudowarunkowanie w wykorzystywanym w niniejszej pracy modelu uczenia stanowi jedną z czterech grup kontrolnych obok grupy (1) myszy naiwnych, (2) myszy,

które otrzymały wyłącznie bodziec dotykowy i (3) myszy, które doświadczyły jedynie szoku w ogon. Wcześniejsze prace wykorzystujące ten model wykazały, że myszy pseudowarunkowane różnią się pod pewnymi względami od myszy trzech pozostałych grup kontrolnych. W baryłkach odpowiadających manipulowanym wibrysom zwierząt pseudowarunkowanych i poddanych tylko bodźcowi dotykowemu stwierdzono znacznie większą gęstość synaps pobudzających niż w baryłkach myszy naiwnych i warunkowanych (Jasinska i in., 2010). Ponadto pokazano, że istnieją zmiany charakterystyczne wyłącznie dla pseudowarunkowania w postaci wzrostu gęstości kolców dendrytycznych w baryłkach odpowiadających manipulowanym wibrysom (Jasinska i in., 2010). Późniejsze doświadczenia ujawniły, że pseudowarunkowanie prowadzi do znacznego spadku liczby immunocytochemicznie wyznakowanych punktów receptora kanabinoidowego typu 1 we wszystkich baryłkach – tych, które odpowiadały manipulowanym wibrysom, jak i tych korespondujących z niemanipulowanymi wibryсами obydwu stron pyszczka myszy (Siucinska i in., 2018). Domniemany spadek liczby receptorów kanabinoidowych typu 1 był charakterystyczny tylko dla grupy pseudowarunkowanej, nie był obserwowany w grupie warunkowanej, naiwnej, grupie myszy poddanych wyłącznie bodźcowi dotykowemu ani w grupie zwierząt, które doświadczyły jedynie szoku elektrycznego (Siucinska i in., 2018). Bazując na tych danych, należy oczekiwać, że pseudowarunkowanie w niniejszym modelu nie jest jedynie prostą formą habituacji sensorycznej, ale stanowi bardziej złożoną formę uczenia nieasocjacyjnego. Uczenia, w które zaangażowane są komórki pobudzające, Int-PV i szlaki sygnałowe związane z receptorami kanabinoidowymi typu 1. Biorąc pod uwagę ekspresję powyższego receptora w korze, można się spodziewać, że również inne interneurony podlegają plastycznym zmianom wywołanym pseudowarunkowaniem, potencjalnymi kandydatami są tu interneurony ekspresujące cholecystokininę lub kalbindynę (Bodor i in., 2005). Jednak możliwe jest, że obserwowane różnice w liczbie receptorów kanabinoidowych typu 1 dotyczą tylko neuronów pobudzających, gdyż także te komórki ekspresują powyższe receptory (E. L. Hill i in., 2007). Przepuszczalnie spadek pobudliwości Int-PV wywołany pseudowarunkowaniem może prowadzić do słabszego hamowania komórek pobudzających IV warstwy i zwiększenia ogólnej aktywności sieci, na co wskazuje również zwiększona gęstość kolców dendrytycznych i synaps pobudzających (Jasinska i in., 2010). Również uszczuplenie liczby receptorów kanabinoidowych typu 1 w neuronach pobudzających teoretycznie powinno wpłynąć na zwiększenie pobudliwości tych komórek i całej sieci (Domenici i in., 2006). Być może

pseudowarunkowanie w korze somatosensorycznej prowadzi do niespecyficznego, uogólnionego procesu, który jest przeciwstawny w stosunku do uczenia asocjacyjnego. Pseudowarunkowanie w takim sensie, poprzez m.in. zmniejszoną pobudliwość Int-PV, mogłoby prowadzić do zwiększonej aktywności neuronów pobudzających, ale skutkowałoby to również zmniejszoną dokładnością transferu informacji, poprzez obniżenie precyzji wyładowań komórek pobudzających. To z kolei teoretycznie mogłoby prowadzić do LTD synaps komórek pobudzających (Celikel i in., 2004). Obserwowany wzrost liczby kolców i synaps pobudzających w grupie zwierząt pseudowarunkowanych mógłby być wtedy postrzegany jako zwiększenie dynamiki plastyczności strukturalnej – dochodziłoby do ciągłej, szybkiej restrukturyzacji połączeń synaptycznych, które miałyby mniejszą stabilność. Zmniejszona pobudliwość Int-PV mogłaby również w znacznym stopniu zaburzyć równowagę pomiędzy pobudzeniem a hamowaniem w lokalnej sieci, co teoretycznie może się przyczyniać do uogólnionego osłabienia funkcji związanych z uczeniem (Campanac i in., 2013; Gandal i in., 2012; Toader i in., 2020). Interesujące wyniki przedstawiają doświadczenia, w których obniżenie ekspresji PV u młodych szczurów w korze przedczołowej prowadziło w dorosłym wieku do obniżenia hamowania komórek piramidowych, a także do pogorszenia procesu wygaszania wcześniej uwarunkowanego zachowania (Caballero i in., 2020). W kontekście powyższych doświadczeń i otrzymanych w niniejszej pracy wyników można również domniemywać, że korowe Int-PV mogą być odpowiedzialne za formę uczenia przeciwstawną warunkowaniu – uczenia związanego z wygaszaniem już nie wzmacnianego i nieprzydatnego dłużej zachowania.

Spadkowi pobudliwości własnej Int-PV towarzyszył wzrost szerokości połówkowej, powiększenie amplitudy AHPs oraz zwiększenie adaptacji wyładowań (ryc. 4.18.c, d; 4.19.b). Nie jest wykluczone, że za te zmiany odpowiadają kanały z rodziny K_v1 , gdyż to właśnie one często uczestniczą w zmianach pobudliwości własnej Int-PV. Wykazano, że jednodniowa deprywacja sensoryczna prowadzi do osłabienia pobudliwości Int-PV II/III warstwy kory baryłkowej, za które odpowiedzialny był zwiększony prąd pochodzący od kanałów K_v1 (Gainey i in., 2018). Prawdopodobnie jednak za obserwowany spadek pobudliwości własnej Int-PV nie są odpowiedzialne kanały $K_v1.1$, gdyż w przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano wzrostu progu wyładowań dla APs ani też nie zanotowano wydłużonej latencji od początku depolaryzującego pulsu do pierwszego AP (dane nie zamieszczone), za co odpowiedzialne są powyższe kanały (Campanac i in., 2013; E. M. Goldberg i in., 2008).

Biorąc pod uwagę obserwowany wzrost szerokości połówkowej zarejestrowanych APs Int-PV można się spodziewać, że to zmniejszenie prądu typu A (ang. *A-type current*) zaangażowane jest w spadek pobudliwości Int-PV (Gainey i in., 2018; Williams i Hablitz, 2015). Tego typu prąd jest kluczowy dla szybkiej repolaryzacji AP i wysokiej częstotliwości wyładowywań Int-PV (Rudy i in., 1999). Zmniejszenie prądu typu A zgadzałoby się z poważnym spadkiem pobudliwości własnej Int-PV obserwowanym po pseudowarunkowaniu.

Spadek pobudliwości własnej w wyniku pseudowarunkowania okazał się jednak nie mieć wpływu na aktywność spontaniczną Int-PV (ryc. 4.20.).

Oprócz zmian w pobudliwości własnej zanotowano również zmiany w sEPSCs Int-PV. Pseudowarunkowanie skutkowało wydłużeniem czasu zaniku powyższych prądów (ryc. 4.22.a, c). Wskazuje to najprawdopodobniej na zmiany w kinetyce receptorów AMPA Int-PV po pseudowarunkowaniu, a dokładnie na opóźnienie ich czasu dezaktywacji (Wall i in., 2002). Przedłużenie czasu zaniku sEPSCs może prowadzić, tak jak zmniejszona pobudliwości, do obniżenia precyzji wyładowań i transmisji informacji między komórkami (Rodriguez-Molina i in., 2007). To zgadzałoby się z założeniem, że pseudowarunkowanie w wykorzystywanym modelu jest przeciwieństwem uczenia asocjacyjnego i może prowadzić do pogorszenia precyzji działania lokalnej sieci. Nie zaobserwowano jednak, aby warunkowanie lub pseudowarunkowanie prowadziło do zmian w częstotliwości lub amplitudzie sEPSCs, co stoi w zgodzie z wcześniej opublikowanymi eksperymentami wykorzystującymi identyczny model uczenia warunkowego (Tokarski i in., 2007).

Eksperymenty z wykorzystaniem techniki optogenetycznej ujawniły wzrost hamowania komórek pobudzających IV warstwy kory baryłkowej przez Int-PV w grupie zwierząt warunkowanych, ale nie pseudowarunkowanych (ryc. 4.23.). Sugeruje to, że mimo braku modyfikacji pobudliwości własnej Int-PV po warunkowaniu, zachodzą w tym uczeniu zmiany synaptyczne i to one mogą odpowiadać za wzrost hamowania komórek pobudzających przez Int-PV. Wzrost hamowania pochodzący od Int-PV, tak jak i w przypadku zwiększonego hamowania od Int-SOM, może być mechanizmem plastyczności homeostatycznej, jak również prowadzić do zwiększenia dokładności przekazu informacji między komórkami pobudzającymi. Z racji miejsca jakie Int-PV zajmują w lokalnej sieci warstwy IV kory baryłkowej, oba mechanizmy wydają się być prawdopodobne. Int-PV i neurony pobudzające IV warstwy kory baryłkowej są unerwiane przez te same aksony komórek wzgórzowych. Jednocześnie Int-PV

w warstwie IV hamują lokalne neurony pobudzające. Taki układ zapewnia szybkie hamowanie komórek pobudzających IV warstwy przez lokalne Int-PV po pobudzeniu przez aksony wzgórzowe – jest to tzw. hamowanie wstępujące (ang. *feed-forward inhibition*) (Cruikshank i in., 2010; Gabernet i in., 2005; Inoue i Imoto, 2006). Zwiększone hamowanie neuronów pobudzających przez Int-PV może regulować stopień pobudzenia komórek glutaminianergicznymi i zapewniać równowagę w aktywności sieci, która jest niezbędna dla plastyczności synaptycznej i prawidłowego uczenia (Campanac i in., 2013; Gandal i in., 2012; Ntim i in., 2020; Toader i in., 2020). Zwiększone hamowanie pochodzące od Int-PV może również polepszyć precyzję wyładowań komórek pobudzających i dokładność kodowania informacji o bodźcu czuciowym (J. Yu i in., 2016). Odnośnie powyższej kwestii wiele właściwości Int-PV stawia je w uprzywilejowanej pozycji w stosunku do Int-SOM. Int-PV zapewniają hamowanie wstępujące komórek pobudzających, unerwiają ciała komórkowe i proksymalne neurony, cechują się silnym przekaźnictwem synaptycznym, ich pobudzające wejścia synaptyczne podlegają depresji, a ponadto komórki te częściej niż Int-SOM unerwiają neurony pobudzające w IV warstwie kory baryłkowej gryzoni (Beierlein i in., 2003; Cruikshank i in., 2010; Markram i in., 2004; Silberberg i Markram, 2007). Cechy te wskazują, że Int-PV są potencjalnie idealnymi komórkami, jeżeli chodzi o kontrolę i precyzję wyładowań neuronów pobudzających. Z tego względu obserwowany wzrost hamowania komórek pobudzających przez Int-PV po warunkowaniu prawdopodobnie zapewnia zwiększoną precyzję wyładowań komórek pobudzających i kontrolę przepływu informacji do wyższych warstw kory.

5.4. Warunkowanie i pseudowarunkowanie skutkują zmianami niektórymi parametrami elektrofizjologicznymi Int-VIP-AC

Int-VIP stanowią specyficzną klasę interneuronów, które zajmują szczególne miejsce i pełnią unikalną funkcję w sieci nerwowej. Komórki te najczęściej hamują pozostałe klasy interneuronów (Int-SOM i Int-PV) i w ten sposób odhamowują inne komórki – zarówno interneurony, jak i komórki pobudzające (Caputi i in., 2009; X. Jiang i in., 2015; Kullander i Topolnik, 2021). Int-VIP hamując aktywność innych interneuronów unerwiających komórki pobudzające tworzą obwody odhamowujące. W ten sposób ich działaniem jest w stanie zwiększyć aktywność neuronów pobudzających przez zniesienie hamowania nałożonego na te komórki przez Int-SOM i/lub Int-PV. Z powyższych względów aktywność Int-VIP i ich wpływ na lokalną sieć coraz częściej

stanowią temat badań w kontekście kodowania i przetwarzania informacji sensorycznej oraz uczenia i formowania się pamięci. Niemniej jednak rola Int-VIP w uczeniu i kodowaniu pamięci jest znacznie słabiej poznana niż udział Int-SOM i Int-PV w powyższych procesach.

Dotychczas udało się potwierdzić wpływ Int-VIP jądra podstawnego bocznego ciała migdałowatego w warunkowaniu strachu (Krabbe i in., 2019). Podobnie prawidłowe funkcjonowanie Int-VIP kory słuchowej jest niezbędne dla odpowiedniego uformowania się pamięci związanej z warunkowaniem strachu (Melzer i in., 2021). Ponadto okazuje się, że Int-VIP przedniej części wyspy częściowo są odpowiedzialne za ekspresję pamięci związanej z warunkowaniem strachu (Ramos-Prats i in., 2022). Również dla prawidłowego uczenia przestrzennego zorientowanego na cel aktywność Int-VIP pola CA1 hipokampa okazuje się być niezbędna (Turi i in., 2019). W I-rzędowej korze motorycznej odhamowanie komórek pobudzających przez Int-VIP jest konieczne w procesie uczenia motorycznego (Adler i in., 2019; C. Ren i in., 2022). W korze przedczołowej Int-VIP odpowiedzialne są natomiast za pamięć krótkotrwałą (Kamigaki i Dan, 2017). Właściwy rozwój Int-VIP jest niezbędny dla prawidłowego przetwarzania bodźców zmysłowych, a w efekcie dla uczenia bazującego na transformacji tych sygnałów (Batista-Brito i in., 2017). Dowiedziono również, że aktywność Int-VIP jest niezbędna w indukcji LTP w warstwie L1b kory gruszkowatej (Canto-Bustos i in., 2022).

Badania dotyczące pobudliwości własnej Int-VIP są jeszcze mniej liczne niż studia obejmujące udział tych komórek w uczeniu i formowaniu pamięci. Do tej pory literatura związana z pobudliwością własną Int-VIP obejmuje zaledwie kilka prac, co sprawia, że zagadnienie to jest znacznie słabiej poznane w powyższych komórkach niż w przypadku Int-SOM i Int-PV.

Podczas eksperymentów poświęconych roli Int-VIP jądra nadskrzyżowaniowego w regulacji rytmu okołodobowego rejestrowano również pobudliwość tych komórek. Badania te nie dowiodły, aby pobudliwość własna Int-VIP obserwowana jako łatwość optogenetycznej indukcji APs zmieniała się w zależności od pory dnia (J. Fan i in., 2015). Późniejsze badania wykazały jedynie, że rytm dobowy wywiera wpływ na opór wejściowy błony, szerokość połówkową APs oraz amplitudę AHPs Int-VIP jądra nadskrzyżowaniowego (Hermansteyne i in., 2016). Powyższe badania nie analizowały jednak pobudliwości własnej w sposób standardowy, dlatego nie można być pewnym, czy rytm okołodobowy wywiera wpływ na częstotliwość wyładowań indukowanych dokomórkowym podaniem prądu. Przy okazji badań nad wpływem morfiny na

przepuszczalność bariery jelitowej sprawdzano wpływ tego opioidu na pobudliwość własną Int-VIP mięśniówki jelita (Muchhala i in., 2022). Powyższe doświadczenia wykazały, że tylko część Int-VIP mięśniówki jelita reaguje na podanie morfiny zmniejszeniem pobudliwości własnej w postaci wzrostu reobazy (Muchhala i in., 2022).

Dotychczas ukazały się tylko trzy prace, które częściowo łączą wpływ pobudliwości własnej Int-VIP z uczeniem i formowaniem się pamięci. Badania na myszach posiadających jedną funkcjonalną kopię genu *SCN1A*, będących modelem syndromu Dravet'a u ludzi, wykazały zmniejszoną pobudliwość własną Int-VIP u transgenicznych zwierząt (Goff i Goldberg, 2019). Zmiany dotyczyły Int-VIP charakteryzujących się nieregularnym wzorem wyładowań i były związane z modyfikacją krzywej F-I, zmniejszoną maksymalną częstotliwością wyładowań, depolaryzacją progu wyładowań dla APs, spadkiem amplitudy APs oraz intensywniejszym zmniejszeniem tej amplitudy wraz z kolejnymi APs (Goff i Goldberg, 2019). Jednocześnie myszy posiadające tylko jedną funkcjonalną kopię genu *SCN1A* charakteryzują się pogorszonymi wynikami w testach sprawdzających uczenie i pamięć (Han i in., 2012). Zatem jest prawdopodobne, że pobudliwość Int-VIP może być istotna dla prawidłowego uczenia u myszy. Studia nad wpływem starzenia na Int-VIP zawierające kalretyninę pola CA1 hipokampa pokazały, że wraz z wiekiem zmieniają się parametry elektrofizjologiczne powyższych komórek (Francavilla i in., 2020). Int-VIP starszych mszy charakteryzowały się zmniejszoną amplitudą kolejnych APs, wolniejszą kinetyką i zwiększoną szerokością APs oraz obniżoną maksymalną częstotliwością wyładowań (Francavilla i in., 2020). Myszy z tak zmniejszoną pobudliwością Int-VIP cechowały się obniżonymi wyniki w teście rozpoznawania nowego obiektu oraz pogorszoną pamięcią przestrzenną (Francavilla i in., 2020). Doświadczenia na korze słuchowej myszy wykazały, że aktywacja receptora specyficznego dla peptydu uwalniającego gastrynę (ang. *gastrin-releasing peptide*) w Int-VIP prowadzi do depolaryzacji błony oraz zwiększenia prawdopodobieństwa wywołania APs w tych komórkach poprzez optogenetyczną aktywację aksonów wzgórzowo-korowych (Melzer i in., 2021). Jednocześnie myszy pozbawione receptora dla powyższego peptydu w Int-VIP kory słuchowej wykazywały słabszą pamięć związaną z warunkowaniem strachu (Melzer i in., 2021). Oczywiście w tym wypadku nie można wykluczyć synaptycznego wpływu, ale biorąc pod uwagę depolaryzację błony Int-VIP, wydaje się, że peptyd uwalniający gastrynę może prowadzić do zmian w aktywności kanałów odpowiedzialnych za prąd bazowy i w ten sposób wpływać na pobudliwość własną

powyższych interneuronów. Stąd obserwowane zmiany w prawdopodobieństwie wywołania APs w Int-VIP wydają się mieć swoje źródło we wzroście pobudliwości własnej. Podsumowując, można się spodziewać, że również pobudliwość własna Int-VIP kory słuchowej jest w pewnym stopniu zaangażowana w uczenie asocjacyjne.

W przedstawionej dysertacji doktorskiej zawarto badania mające na celu sprawdzenie, czy uczenie prowadzi do zmian pobudliwości własnej Int-VIP IV warstwy kory baryłkowej. Pomimo faktu, że Int-VIP stanowią bardzo niewielką frakcję interneuronów GABAergicznym w IV warstwie kory gryzoni, postanowiono zanalizować i tę klasę komórek, aby uzyskać pełny obraz wpływu uczenia na pobudliwość własną wszystkich grup interneuronów GABAergicznym (Tremblay i in., 2016). Analizie poddano dwie najliczniejsze grupy Int-VIP wyróżnione na podstawie wzorów wyładowań i innych parametrów elektrofizjologicznym: Int-VIP-AC i Int-VIP-LTS (ryc. 4.24., 4.25.).

W klasie Int-VIP-AC najliczniejsze różnice w parametrach elektrofizjologicznym zaobserwowano w grupie zwierząt pseudowarunkowanym. Int-VIP-AC grupy pseudowarunkowanej różniły się od grupy naiwnej i/lub warunkowanej pod względem podstawowym parametrów elektrofizjologicznym, pobudliwości własnej i parametrów APs (ryc. 4.26–4.30.). Pseudowarunkowanie skutkowało depolaryzacją potencjału spoczynkowego i potencjału progowego, spadkiem amplitudy APs oraz zwiększeniem szerokości połówkowej APs w stosunku do zwierząt naiwnym (ryc. 4.26.a, 4.30.a-c). Powyższe zmiany, które teoretycznie powinny wpłynąć na krzywą sigmoidalną, nie skutkowały jednak statystycznie istotnym różnicami w parametrach wspomnianej krzywej (ryc. 4.28., 4.29.). Zanotowano jedynie niższą pobudliwość Int-VIP-AC grupy pseudowarunkowanej w stosunku do grupy warunkowanej, ale nie naiwnej (ryc. 4.27–4.29.). W grupie zwierząt warunkowanym zaobserwowano różnice w stosunku do grupy naiwnej odnośnie zdepolaryzowanego potencjału progowego i zmniejszonej adaptacji wyładowań (ryc. 4.30.a, 4.31.b). Trudno ocenić, czy uzyskane wyniki wskazują na zwiększenie pobudliwości Int-VIP-AC w grupie zwierząt warunkowanym w porównaniu do pseudowarunkowanym, czy też na odwrót, następuje zmniejszenie pobudliwości Int-VIP-AC po pseudowarunkowaniu. Być może dochodzi do przeciwstawnym (rozbieżnym) zmian pobudliwości własnej Int-VIP-AC w zależności od procedury uczenia. Warunkowanie prowadzi do zwiększenia pobudliwości Int-VIP, a pseudowarunkowanie do jej zmniejszenia. Pomimo braku statystycznie istotnym różnic w parametrach krzywej sigmoidalnej między grupą zwierząt pseudowarunkowanym

a naiwnych, zmiany w wartościach potencjału spoczynkowego, potencjału progowego i szerokości połówkowej APs sugerują nieduży spadek w pobudliwości własnej Int-VIP-AC zachodzący po pseudowarunkowaniu. Być może Int-VIP-AC IV warstwy kory baryłkowej zaangażowane są, tak jak lokalne Int-PV w mechanizm przeciwstawny do uczenia warunkowego (rozdz. 5.3., str. 132.). Możliwe jest też, że Int-VIP-AC uczestniczą tylko w początkowej fazie tego procesu, a obserwowane po trzech dniach pseudowarunkowania niewielkie zmiany w pobudliwości własnej są jedynie skutkiem i pozostałością wcześniejszej aktywności. W jądrze podstawnym bocznym ciała migdałowatego aktywność Int-VIP maleje w trakcie uczenia wraz z nabywaniem doświadczenia przez zwierzę (Krabbe i in., 2019). Powyższe komórki najsilniej odpowiadają na bezwarunkowy bodziec elektryczny, ale ich aktywność (jak wyżej wspomniano) maleje wraz z postępem w nauce zwierzęcia. Interesujący jest natomiast fakt, że aktywność Int-VIP ponownie można zwiększyć stosując bodziec elektryczny niesparowany z bodźcem warunkowanym lub bodziec bezwarunkowy o zwiększonej mocy, co sugeruje, że interneurony te aktywowane są przez bodźce, których zwierzę się nie spodziewa (Krabbe i in., 2019). Wydaje się, że Int-VIP jądra podstawnego bocznego ciała migdałowatego aktywowane są przez zmiany w środowisku, które nakładają na zwierzę wymóg uczenia lub zrewidowania wcześniejszego doświadczenia. Wówczas Int-VIP jądra podstawnego bocznego ciała migdałowatego mogłyby być zaangażowane w proces oduczania się wcześniejszej asocjacji, gdy zwierzę jest zmuszone zrewidować dotychczasowe doświadczenie. Int-VIP jądra podstawnego bocznego mogłyby być odpowiedzialne za wykrycie ustania wcześniejszej asocjacji lub braku asocjacji w ogóle. W takim wypadku nie jest wykluczone, że również Int-VIP IV warstwy kory baryłkowej mogłyby uczestniczyć w takim mechanizmie. W ten sposób za wstępną fazę procesu pseudowarunkowania mogłyby być odpowiedzialne Int-VIP-AC, a za późniejszy etap tego mechanizmu Int-PV.

W przypadku Int-VIP-LTS nie zaobserwowano zmian w parametrach krzywych sigmoidalnych (ryc. 4.37, 4.38.). Zaobserwowane zmiany między grupami doświadczalnymi dotyczyły zwiększonych wartości reobazy i depolaryzacji potencjału progowego w grupie pseudowarunkowanej w stosunku do grupy naiwnej (ryc. 4.35.c, 4.39.a). Być może pseudowarunkowanie prowadzi do modyfikacji dynamiki pobudliwości własnej Int-VIP-LTS sprawiając, że są one mniej pobudliwe przy niższych natężeniach prądu. Możliwe, że zmiany w dynamice pobudliwości własnej były na tyle niewielkie, że nie zostały wykryte przez analizę parametru „b” opisującego nachylenie

krzywej sigmoidalnej. Otrzymane dane są jednak niejednoznaczne i nie można być pewnym, czy pseudowarunkowanie rzeczywiście wpływa na dynamikę pobudliwości własnej Int-VIP-LTS.

W trakcie badań nie zaobserwowano wpływu procedur uczenia na aktywność spontaniczną i sEPSCs Int-VIP-AC i Int-VIP-LTS (ryc. 4.32–4.34., 4.41–4.43.).

W doświadczeniach z wykorzystaniem optogenetyki, zgodnie z danymi literaturowymi, stwierdzono, że Int-VIP bardzo rzadko hamują komórki pobudzające, a amplituda wywoływanych IPSCs w komórkach pobudzających jest niewielka (ryc. 4.44.) (Pfeffer i in., 2013; Pi i in., 2013). W związku z niewielką siłą połączeń synaptycznych, sprawdzono tylko procent komórek pobudzających IV warstwy kory baryłkowej unerwianych przez Int-VIP. Wspomniana analiza nie wykazała jednak statystycznie istotnych różnic między badanymi grupami zwierząt (ryc. 4.45.). Sugeruje to, że ewentualne zmiany pobudliwości własnej Int-VIP po uczeniu będą bezpośrednio wpływały na hamowanie innych interneuronów przez Int-VIP.

5.5. Hipotetyczny wpływ obserwowanych zmian na lokalną sieć IV warstwy kory baryłkowej

W efekcie warunkowania zaobserwowano wzrost pobudliwości własnej Int-SOM-LTS IV warstwy kory baryłkowej, jak i zwiększone hamowania lokalnych komórek pobudzających przez Int-SOM i Int-PV (ryc. 4.3–4.5., 4.11., 4.23.). Jak już wyżej wspomniano wzrost hamowania neuronów pobudzających IV warstwy kory baryłkowej przez lokalne Int-SOM i Int-PV może być odpowiedzią na zwiększoną aktywność komórek glutaminianergicznymi zachodzącą w wyniku warunkowania. W ten sposób obserwowane zmiany pobudliwości własnej i modyfikacje synaptyczne następujące po warunkowaniu byłyby formami plastyczności homeostatycznej i zapewniałyby równowagę między pobudzeniem a hamowaniem w lokalnej sieci IV warstwy kory baryłkowej (Le Roux i in., 2008; G. Turrigiano, 2011). Zapewnienie powyższej równowagi teoretycznie byłoby niezbędne dla utrzymania się już wyuczonej asocjacji, jak i dla zajęcia kolejnych form uczenia opierających się na stymulacji wibrys. Wiele badań na mysich modelach chorób układu nerwowego, w których obserwuje się osłabienie zdolności uczenia u zwierząt, jednocześnie wskazuje na zaburzoną równowagę między aktywnością komórek glutaminianergicznymi a GABAergicznymi (Costa i in., 2002; Haji i in., 2020; Souchet i in., 2014). Ponadto przezczaszkowa stymulacja magnetyczna (ang. *transcranial magnetic stimulation*) u szczurów jest w stanie

modulować stosunek między pobudzeniem a hamowaniem w korze, co wpływa na odpowiedzi neuronów IV warstwy kory baryłkowej na manipulację wibrys (Thimm i Funke, 2015). Taka stymulacja magnetyczna kory jest również w stanie wpływać na uczenie asocjacyjne związane z bodźcem dotykowym rozpoznawanym za pomocą wibrys (Mix i in., 2010). Powyższe eksperymenty wskazują, że proporcja między pobudzeniem a hamowaniem w IV warstwie kory baryłkowej jest istotna dla uczenia asocjacyjnego. Biorąc pod uwagę stosunek liczby Int-SOM do Int-PV w korze – zwłaszcza w jej IV warstwie – oraz częstość i siłę połączeń tworzonych między tymi interneuronami a komórkami glutaminianergicznymi, zachowanie równowagi między pobudzeniem a hamowaniem zapewniane byłoby głównie przez Int-PV (Beierlein i in., 2003; Pfeffer i in., 2013; Tremblay i in., 2016). Przemawia za tym również zanotowany średni transfer ładunku optogenetycznie indukowanych IPSCs w komórkach glutaminianergicznymi IV warstwy kory baryłkowej. U warunkowanych zwierząt transfer ten generowany przez Int-PV wynosił ok. 62 nA*ms, natomiast przez Int-SOM jedynie ok. 9,5 nA*ms (ryc. 4.11.b, 4.23.b).

Zaobserwowane zwiększone hamowanie pochodzące od Int-SOM i Int-PV może też wpływać na wzrost dokładności przekazywania informacji między komórkami glutaminianergicznymi IV warstwy kory baryłkowej (Włodarczyk i in., 2013). Niektóre badania wskazują, że złożoność bodźca somatosensorycznego kodowana jest przez wzór wyładowań populacji komórek (Arabzadeh i in., 2006). Inne analizy ujawniają również, że czas wyładowań poszczególnych APs ma potencjalnie dużą pojemność kodowania informacji (R. S. Petersen i in., 2002). Podwyższenie czasowej precyzji wyładowań neuronów pobudzających teoretycznie może pozytywnie wpływać na proces kodowania informacji sensorycznej. Interesujący jest fakt, że w wyniku warunkowania zaobserwowano jednocześnie wzrost hamowania zarówno od Int-SOM, jak i od Int-PV. Z racji swojego położenia w sieci, obie klasy interneuronów zaangażowane są na różnych poziomach kodowania informacji. Wzrost IPSCs od Int-PV wpłynie jednocześnie na pierwsze hamowanie sygnału docierającego do warstwy IV ze wzgórza (dzięki procesowi hamowania wstępującego), jak i na późniejsze etapy przetwarzania informacji sensorycznej w tej warstwie. Zwiększenie hamowania od Int-PV teoretycznie powinno podnieść precyzję odpowiedzi komórek glutaminianergicznymi IV warstwy na pobudzenie docierające ze wzgórza. Natomiast Int-SOM z racji tego, że otrzymują tylko znikome pobudzenie od wzgórzowo-korowych aksonów, są zaangażowane dopiero w kolejnych etapach – nie wcześniej niż po pobudzeniu przez neurony

glutaminianergiczne IV warstwy – zapewniając hamowanie zwrotne. W związku z tym, że Int-SOM unerwiają dendryty dystalne, a Int-PV ciała komórkowe i dendryty proksymalne neuronów glutaminianergicznych, jednoczesne zwiększenie hamowania od obydwu klas interneuronów powinno zwiększyć kontrolę informacji zarówno na wejściu, jak i na wyjściu komórek pobudzających. Ta dwustopniowa kontrola hipotetycznie powinna się przyczynić do większej dokładności wyładowań między komórkami pobudzającymi i precyzji informacji wychodzącej z warstwy IV do warstw II/III.

W przypadku zwierząt pseudowarunkowanych zaobserwowano natomiast zmniejszenie pobudliwości własnej Int-PV IV warstwy kory baryłkowej (ryc. 4.15–4.17.). Osłabionej pobudliwości własnej Int-PV nie towarzyszyło jednak zmniejszenie hamowania przez te komórki neuronów glutaminianergicznych, co sugeruje zajęcie jakiegoś synaptycznego mechanizmu kompensacyjnego (ryc. 4.23.). Mimo tego zmniejszona pobudliwość własna Int-PV powinna osłabić czułość tych komórek na przychodzący presynaptyczny sygnał o niedużej sile, co skutkowało by mogło częściowo stłumioną kontrolą nad neuronami glutaminianergicznymi. Osłabiona kontrola mogłaby prowadzić do dekorelacji aktywności komórek pobudzających, a w dalszej kolejności do LTD, czyli do mechanizmu, który jest odwrotnością uczenia asocjacyjnego (Celikel i in., 2004). Co więcej, zdesynchronizowana aktywność neuronów pobudzających IV warstwy mogłaby prowadzić również do LTD synaps, które tworzą te komórki z neuronami glutaminianergicznymi II/III warstwy (Celikel i in., 2004; Feldman, 2000). Dekorelacja aktywności między neuronami pobudzającymi IV warstwy i między tymi komórkami a neuronami glutaminianergicznymi II/III warstwy prowadziłyby do pogorszenia procesu sumowania synaptycznego. W ten sposób pseudowarunkowanie teoretycznie mogłoby prowadzić do pogorszenia przetwarzania i kodowania informacji sensorycznej przez całą kolumnę korową i utrudnić ewentualne późniejsze uczenie asocjacyjne.

Rejestracje elektrofizjologiczne Int-VIP-AC i Int-VIP-LTS IV warstwy kory nie wykazały zmian w krzywej sigmoidalnej między zwierzętami naiwnymi a warunkowanymi lub naiwnymi a pseudowarunkowanymi (ryc. 4.28., 4.29., 4.37., 4.38.). Zaobserwowano natomiast depolaryzację potencjału spoczynkowego i potencjału progowego dla APs oraz zmniejszenie amplitudy i wydłużenie szerokości połówkowej APs Int-VIP-AC grupy Pseudo. w stosunku do grupy Naiwnej, co może wskazywać jednak na pewne różnice w pobudliwości własnej (ryc. 4.26.a, 4.30.a-c). Wydaje się więc, że pseudowarunkowanie prowadzi do subtelnych zmian w pobudliwości własnej Int-VIP-AC obserwowanych 24 h po ostatniej sesji pseudowarunkowania. Być może

Int-VIP-AC IV warstwy kory baryłkowej pełnią pewną modulacyjną rolę w aktywności lokalnych Int-SOM i/lub Int-PV na wczesnych etapach uczenia asocjacyjnego. Jednak 24 h po uczeniu i uformowaniu pamięci asocjacyjnej u myszy ich rola prawdopodobnie jest znikoma, zwłaszcza biorąc pod uwagę zmiany w tylko niektórych wskaźnikach związanych z pobudliwością własną tych komórek, a także małą liczebność Int-VIP w IV warstwie kory baryłkowej oraz fakt, że Int-VIP-AC stanowią ok. połowy wszystkich Int-VIP w warstwie IV (ryc. 4.24.) (Bayraktar i in., 2000; Prönneke i in., 2015).

Podsumowując, niniejsza praca wykazała, że uczenie w oparciu o zasady warunkowania lub pseudowarunkowania prowadzi do zmian plastycznych pobudliwości własnej trzech typów interneuronów GABAergicznym IV warstwy kory baryłkowej: Int-SOM, Int-PV i Int-VIP. Ponadto obserwowany kierunek zmian był specyficzny dla każdego z molekularnych typów komórek GABAergicznym i formy uczenia.

Wyniki przedstawione w niniejszej rozprawie doktorskiej dotyczą identyfikacji obwodów neuronalnych ulegających zmianom plastycznym w trakcie uczenia się. Uzyskane informacje wzbogacą wiedzę z zakresu mechanizmów plastyczności związanej z procesami uczenia się i pamięci.

6. Podsumowanie i wnioski

W przedstawionej dysertacji wykazano, że proste formy uczenia myszy powodują zmiany plastyczne wybranych klas interneuronów GABAergicznym w IV warstwie kory baryłkowej (Ryc. 6.1.).

Zaobserwowano:

- zmiany plastyczne pobudliwości własnej interneuronów,
- zmiany plastyczne synaps pobudzających te interneurony,
- zmiany plastyczne hamowania neuronów pobudzających przez te klasy interneuronów.

Stwierdzono, że zmiany plastyczne są specyficzne dla danej klasy interneuronów i formy uczenia.

Zmiany plastyczne pobudliwości własnej obejmowały:

- zwiększenie pobudliwości Int-SOM-LTS u myszy poddanych warunkowaniu w porównaniu do myszy pseudowarunkowanych i naiwnych,
- zmniejszenie pobudliwości Int-PV po pseudowarunkowaniu w porównaniu z innymi grupami zwierząt,
- zmniejszenie pobudliwości Int-VIP-AC po pseudowarunkowaniu w porównaniu z myszami warunkowanymi, ale nie naiwnymi.

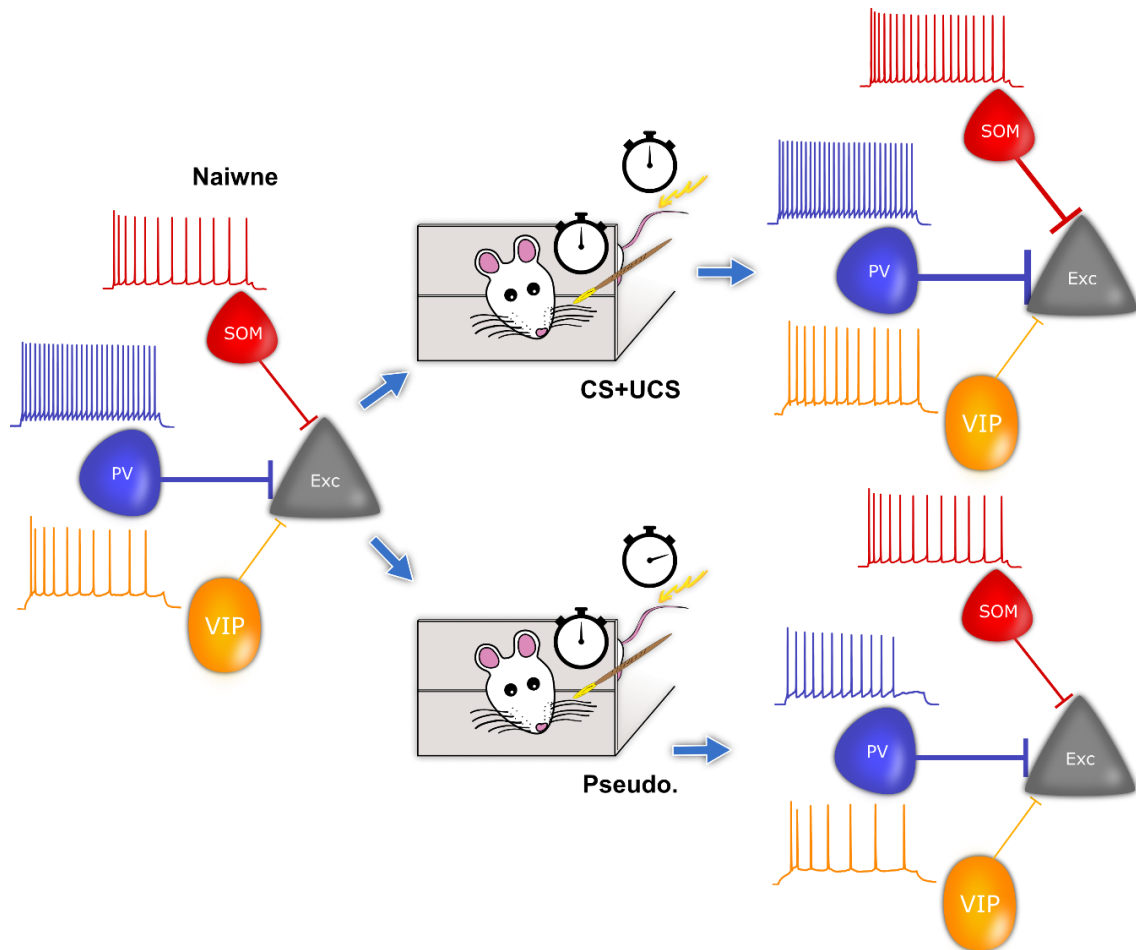
Otrzymane dane dotyczące pobudliwości własnej Int-VIP-LTS mogą wskazywać na zmniejszenie pobudliwości własnej Int-VIP-LTS po pseudowarunkowaniu w porównaniu z myszami naiwnymi, ale nie warunkowanymi. Dane te są jednak niejednoznaczne i nie można bezspornie stwierdzić, że rzeczywiście doszło do zmian plastycznych pobudliwości własnej Int-VIP-LTS w wyniku pseudowarunkowania.

Zmiany plastyczne synaps obejmowały:

- wzmocnienie pobudzającego przekąźnictwa synaptycznego wejść unerwiających Int-SOM-LTS po warunkowaniu,
- zwiększenie hamowania neuronów glutaminianergicznym przez Int-SOM i Int-PV po warunkowaniu.

Nie zaobserwowano wpływu warunkowania i pseudowarunkowania na:

- hamowanie neuronów glutaminianergicznycch przez Int-VIP,
- pobudzające przekazywanie synaptyczne unerwiające Int-VIP-AC i Int-VIP-LTS.



Ryc. 6.1. Zmiany wywołane warunkowaniem i pseudowarunkowaniem myszy dotyczące trzech populacji komórek GABAergicznycch w IV warstwie kory barylkowej.

Wzory wyładowań prezentują wzrost pobudliwości własnej po warunkowaniu w przypadku Int-SOM-LTS i spadek pobudliwości po pseudowarunkowaniu w przypadku Int-PV. Pobudliwość Int-VIP-AC u myszy pseudowarunkowanych była niższa niż u warunkowanych, ale nie w porównaniu z myszami naiwnymi. Nie stwierdzono różnic w pobudliwości Int-VIP-AC między grupą myszy warunkowanych i naiwnych. Różnice w grubościach połączeń między komórkami odzwierciedlają wzrost siły hamowania komórek pobudzających przez Int-SOM i Int-PV po warunkowaniu, ale nie pseudowarunkowaniu.

7. Bibliografia

1. Abbas A. I., Sundiang M. J. M., Henoch B., Morton M. P., Bolkan S. S., Park A. J., Harris A. Z., Kellendonk C. i Gordon J. A. (2018). Somatostatin interneurons facilitate hippocampal-prefrontal synchrony and prefrontal spatial encoding. *Neuron*, *100*(4), 926-939.e3. DOI:10.1016/j.neuron.2018.09.029
2. Abraham W. C. (2008). Metaplasticity: tuning synapses and networks for plasticity. *Nature Reviews Neuroscience*, *9*(5), 387–387. DOI:10.1038/nrn2356
3. Abraham W. C. i Bear M. F. (1996). Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends in Neurosciences*, *19*(4), 126–130. DOI:10.1016/S0166-2236(96)80018-X
4. Abraham W. C. i Richter-Levin G. (2018). From synaptic metaplasticity to behavioral metaplasticity. *Neurobiology of Learning and Memory*, *154*(October), 1–4. DOI:10.1016/j.nlm.2018.08.015
5. Adler A., Zhao R., Shin M. E., Yasuda R. i Gan W.-B. (2019). Somatostatin-expressing interneurons enable and maintain learning-dependent sequential activation of pyramidal neurons. *Neuron*, *102*(1), 202-216.e7. DOI:10.1016/j.neuron.2019.01.036
6. Agopyan N. i Avoli M. (1988). Synaptic and non-synaptic mechanisms underlying low calcium bursts in the *in vitro* hippocampal slice. *Experimental Brain Research*, *73*(3), 533–540. DOI:10.1007/BF00406611
7. Alger B. E., Dhanjal S. S., Dingledine R., Garthwaite J., Henderson G., King G. L., Lipton P., North A., Schwartzkroin P. A., Sears T. A., Segal M., Whittingham T. S. i Williams J. (1984). Brain Slice Methods. W: Dingledine R. (Red.), *Brain Slices* (1. wyd., s. 381–437). Nowy Jork: Wydawnictwo Springer New York. ISBN: 978-1-4684-4585-5
8. Alwis D. S. i Rajan R. (2013). Environmental enrichment causes a global potentiation of neuronal responses across stimulus complexity and lamina of sensory cortex. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *7*(August), 124. DOI:10.3389/fncel.2013.00124
9. Aman T. K., Grieco-Calub T. M., Chen C., Rusconi R., Slat E. A., Isom L. L. i Raman I. M. (2009). Regulation of persistent Na current by interactions between β subunits of voltage-gated Na channels. *Journal of Neuroscience*, *29*(7), 2027–2042. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4531-08.2009
10. Anggono V. i Huganir R. L. (2012). Regulation of AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Current Opinion in Neurobiology*, *22*(3), 461–469. DOI:10.1016/j.conb.2011.12.006
11. Arabzadeh E., Panzeri S. i Diamond M. E. (2006). Deciphering the spike train of a sensory neuron: counts and temporal patterns in the rat whisker pathway. *Journal of Neuroscience*, *26*(36), 9216–9226. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1491-06.2006

12. Arif S. H. (2009). A Ca²⁺-binding protein with numerous roles and uses: parvalbumin in molecular biology and physiology. *BioEssays*, 31(4), 410–421. DOI:10.1002/bies.200800170
13. Armano S., Rossi P., Taglietti V. i D'Angelo E. (2000). Long-term potentiation of intrinsic excitability at the mossy fibergranule cell synapse of rat cerebellum. *Journal of Neuroscience*, 20(14), 5208–5216. DOI:10.1523/jneurosci.20-14-05208.2000
14. Armenta-Resendiz M., Assali A., Tsvetkov E., Cowan C. W. i Lavin A. (2022). Repeated methamphetamine administration produces cognitive deficits through augmentation of GABAergic synaptic transmission in the prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*, 47(10), 1816–1825. DOI:10.1038/s41386-022-01371-9
15. Arnold E. C., McMurray C., Gray R. i Johnston D. (2019). Epilepsy-induced reduction in HCN channel expression contributes to an increased excitability in dorsal, but not ventral, hippocampal CA1 neurons. *eNeuro*, 6(2), ENEURO.0036-19.2019. DOI:10.1523/ENEURO.0036-19.2019
16. Artola A., Bröcher S. i Singer W. (1990). Different voltage-dependent thresholds for inducing long-term depression and long-term potentiation in slices of rat visual cortex. *Nature*, 347(6288), 69–72. DOI:10.1038/347069a0
17. Ascoli G. A., Alonso-Nanclares L., Anderson S. A., Barrionuevo G., Benavides-Piccione R., Burkhalter A., Buzsáki G., Cauli B., Defelipe J., Fairén A., Feldmeyer D., Fishell G., Fregnac Y., Freund T. F., Gardner D., Gardner E. P., Goldberg J. H., ... Yuste R. (2008). Petilla terminology: nomenclature of features of GABAergic interneurons of the cerebral cortex. *Nature Reviews Neuroscience*, 9(7), 557–568. DOI:10.1038/nrn2402
18. Ascoli G. A., Gasparini S., Medinilla V. i Migliore M. (2010). Local control of postinhibitory rebound spiking in CA1 pyramidal neuron dendrites. *Journal of Neuroscience*, 30(18), 6434–6442. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4066-09.2010
19. Aton S. J., Colwell C. S., Harmar A. J., Waschek J. i Herzog E. D. (2005). Vasoactive intestinal polypeptide mediates circadian rhythmicity and synchrony in mammalian clock neurons. *Nature Neuroscience*, 8(4), 476–483. DOI:10.1038/nn1419
20. Bant J. S. i Raman I. M. (2010). Control of transient, resurgent, and persistent current by open-channel block by Na channel β 4 in cultured cerebellar granule neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(27), 12357–12362. DOI:10.1073/pnas.1005633107
21. Barnes S. J., Franzoni E., Jacobsen R. I., Erdelyi F., Szabo G., Clopath C., Keller G. B. i Keck T. (2017). Deprivation-induced homeostatic spine scaling in vivo is localized to dendritic branches that have undergone recent spine loss. *Neuron*, 96(4), 871-882.e5. DOI:10.1016/j.neuron.2017.09.052

22. Batista-Brito R., Vinck M., Ferguson K. A., Chang J. T., Laubender D., Lur G., Mossner J. M., Hernandez V. G., Ramakrishnan C., Deisseroth K., Higley M. J. i Cardin J. A. (2017). Developmental dysfunction of VIP interneurons impairs cortical circuits. *Neuron*, 95(4), 884-895.e9. DOI:10.1016/j.neuron.2017.07.034
23. Bayraktar T., Staiger J. F., Acsady L., Cozzari C., Freund T. F. i Zilles K. (1997). Co-localization of vasoactive intestinal polypeptide, γ -aminobutyric acid and choline acetyltransferase in neocortical interneurons of the adult rat. *Brain Research*, 757(2), 209–217. DOI:10.1016/S0006-8993(97)00218-7
24. Bayraktar T., Welker E., Freund T. F., Zilles K. i Staiger J. F. (2000). Neurons immunoreactive for vasoactive intestinal polypeptide in the rat primary somatosensory cortex: morphology and spatial relationship to barrel-related columns. *The Journal of Comparative Neurology*, 420(3), 291–304. DOI:10.1002/(SICI)1096-9861(20000508)420:3<291::AID-CNE2>3.0.CO;2-H
25. Beattie E. C., Carroll R. C., Yu X., Morishita W., Yasuda H., von Zastrow M. i Malenka R. C. (2000). Regulation of AMPA receptor endocytosis by a signaling mechanism shared with LTD. *Nature Neuroscience*, 3(12), 1291–1300. DOI:10.1038/81823
26. Beierlein M., Gibson J. R. i Connors B. W. (2003). Two dynamically distinct inhibitory networks in layer 4 of the neocortex. *Journal of Neurophysiology*, 90(5), 2987–3000. DOI:10.1152/jn.00283.2003
27. Bekisz M., Garkun Y., Wabno J., Hess G., Wrobel A. i Kossut M. (2010). Increased excitability of cortical neurons induced by associative learning: an *ex vivo* study. *European Journal of Neuroscience*, 32(10), 1715–1725. DOI:10.1111/j.1460-9568.2010.07453.x
28. Bellavance M.-A., Takatoh J., Lu J., Demers M., Kleinfeld D., Wang F. i Deschênes M. (2017). Parallel inhibitory and excitatory trigemino-facial feedback circuitry for reflexive vibrissa movement. *Neuron*, 95(3), 673-682.e4. DOI:10.1016/j.neuron.2017.06.045
29. Belmeguenai A., Hosy E., Bengtsson F., Pedroarena C. M., Piochon C., Teuling E., He Q., Ohtsuki G., De Jeu M. T. G., Elgersma Y., De Zeeuw C. I., Jorntell H. i Hansel C. (2010). Intrinsic plasticity complements long-term potentiation in parallel fiber input gain control in cerebellar Purkinje cells. *Journal of Neuroscience*, 30(41), 13630–13643. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3226-10.2010
30. Benke T. A., Lüthi A., Isaac J. T. R. i Collingridge G. L. (1998). Modulation of AMPA receptor unitary conductance by synaptic activity. *Nature*, 393(6687), 793–797. DOI:10.1038/31709
31. Benoit R., Bohlen P., Ling N., Esch F., Baird A., Ying S. Y., Wehrenberg W. B., Guillemin R., Morrison J. H., Bakhit C., Koda L. i Bloom F. E. (1985). Somatostatin-28 [1–12] — Like Peptides. W: Patel Y. C. i Tannenbaum G. S. (Red.), *Somatostatin* (s. 89–107). Nowy Jork: Wydawnictwo Springer New York. DOI:10.1007/978-1-4615-7886-4_6

32. Berg R. W. i Kleinfeld D. (2003). Rhythmic whisking by rat: retraction as well as protraction of the vibrissae is under active muscular control. *Journal of Neurophysiology*, 89(1), 104–117. DOI:10.1152/jn.00600.2002
33. Bero A. W., Yan P., Roh J. H., Cirrito J. R., Stewart F. R., Raichle M. E., Lee J.-M. i Holtzman D. M. (2011). Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition. *Nature Neuroscience*, 14(6), 750–756. DOI:10.1038/nn.2801
34. Bigge C. F. (1999). Ionotropic glutamate receptors. *Current Opinion in Chemical Biology*, 3(4), 441–447. DOI:10.1016/S1367-5931(99)80065-9
35. Binder M. D., Hirokawa N. i Windhorst U. (Red.). (2009). Postsynaptic Currents (EPSCs and IPSCs) or Potentials (EPSPs and IPSPs). W: *Encyclopedia of Neuroscience* (s. 3208). Berlin, Heidelberg: Wydawnictwo Springer Berlin Heidelberg. DOI:10.1007/978-3-540-29678-2_4701
36. Blatow M., Rozov A., Katona I., Hormuzdi S. G., Meyer A. H., Whittington M. A., Caputi A. i Monyer H. (2003). A novel network of multipolar bursting interneurons generates theta frequency oscillations in neocortex. *Neuron*, 38(5), 805–817. DOI:10.1016/S0896-6273(03)00300-3
37. Bliss T. V. P. i Gardner-Medwin A. R. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the unanaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 357–374. DOI:10.1113/jphysiol.1973.sp010274
38. Bliss T. V. P. i Lomo T. (1973). Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *The Journal of Physiology*, 232(2), 331–356. DOI:10.1113/jphysiol.1973.sp010273
39. Bock T., Honnuraiah S. i Stuart G. J. (2019). Paradoxical excitatory impact of SK channels on dendritic excitability. *The Journal of Neuroscience*, 39(40), 7826–7839. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0105-19.2019
40. Bock T. i Stuart G. J. (2016). The impact of BK channels on cellular excitability depends on their subcellular location. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 10(August), 206. DOI:10.3389/fncel.2016.00206
41. Bodor Á. L., Katona I., Nyíri G., Mackie K., Ledent C., Hájos N. i Freund T. F. (2005). Endocannabinoid signaling in rat somatosensory cortex: laminar differences and involvement of specific interneuron types. *Journal of Neuroscience*, 25(29), 6845–6856. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0442-05.2005
42. Bortolotto Z. A. i Collingridge G. L. (1992). Activation of glutamate metabotropic receptors induces long-term potentiation. *European Journal of Pharmacology*, 214(2–3), 297–298. DOI:10.1016/0014-2999(92)90135-Q

43. Bortone D. S., Olsen S. R. i Scanziani M. (2014). Translaminar inhibitory cells recruited by layer 6 corticothalamic neurons suppress visual cortex. *Neuron*, 82(2), 474–485. DOI:10.1016/j.neuron.2014.02.021
44. Bosch M., Castro J., Saneyoshi T., Matsuno H., Sur M. i Hayashi Y. (2014). Structural and molecular remodeling of dendritic spine substructures during long-term potentiation. *Neuron*, 82(2), 444–459. DOI:10.1016/j.neuron.2014.03.021
45. Bossi S., Dhanasobhon D., Ellis-Davies G. C. R., Frontera J., de Brito Van Velze M., Lourenço J., Murillo A., Luján R., Casado M., Perez-Otaño I., Bacci A., Popa D., Paoletti P. i Rebola N. (2022). GluN3A excitatory glycine receptors control adult cortical and amygdalar circuits. *Neuron*, 110(15), 2438–2454.e8. DOI:10.1016/j.neuron.2022.05.016
46. Brager D. H. i Johnston D. (2007). Plasticity of intrinsic excitability during long-term depression is mediated through mGluR-dependent changes in Ih in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, 27(51), 13926–13937. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3520-07.2007
47. Brennehan D. E. (2007). Neuroprotection: a comparative view of vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide. *Peptides*, 28(9), 1720–1726. DOI:10.1016/j.peptides.2007.04.002
48. Breton J.-D. i Stuart G. J. (2009). Loss of sensory input increases the intrinsic excitability of layer 5 pyramidal neurons in rat barrel cortex. *The Journal of Physiology*, 587(21), 5107–5119. DOI:10.1113/jphysiol.2009.180943
49. Brickley S. G., Cull-Candy S. G. i Farrant M. (1996). Development of a tonic form of synaptic inhibition in rat cerebellar granule cells resulting from persistent activation of GABAA receptors. *The Journal of Physiology*, 497(3), 753–759. DOI:10.1113/jphysiol.1996.sp021806
50. Browne L., Smith K. E. i Jagger D. J. (2017). Identification of persistent and resurgent sodium currents in spiral ganglion neurons cultured from the mouse cochlea. *eNeuro*, 4(6), ENEURO.0303-17.2017. DOI:10.1523/ENEURO.0303-17.2017
51. Buchanan K. A., Blackman A. V., Moreau A. W., Elgar D., Costa R. P., Lalanne T., Tudor Jones A. A., Oyrer J. i Sjöström P. J. (2012). Target-specific expression of presynaptic NMDA receptors in neocortical microcircuits. *Neuron*, 75(3), 451–466. DOI:10.1016/j.neuron.2012.06.017
52. Bureau I., Shepherd G. M. G. i Svoboda K. (2008). Circuit and plasticity defects in the developing somatosensory cortex of *Fmr1* knock-out mice. *Journal of Neuroscience*, 28(20), 5178–5188. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1076-08.2008

53. Burrell B. D., Sahley C. L. i Muller K. J. (2001). Non-associative learning and serotonin induce similar bi-directional changes in excitability of a neuron critical for learning in the medicinal leech. *The Journal of Neuroscience*, 21(4), 1401–1412.
DOI:10.1523/JNEUROSCI.21-04-01401.2001
54. Butko M. T., Savas J. N., Friedman B., Delahunty C., Ebner F., Yates J. R. i Tsien R. Y. (2013). In vivo quantitative proteomics of somatosensory cortical synapses shows which protein levels are modulated by sensory deprivation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(8), E726–E735. DOI:10.1073/pnas.1300424110
55. Caballero A., Flores-Barrera E., Thomases D. R. i Tseng K. Y. (2020). Downregulation of parvalbumin expression in the prefrontal cortex during adolescence causes enduring prefrontal disinhibition in adulthood. *Neuropsychopharmacology*, 45(9), 1527–1535. DOI:10.1038/s41386-020-0709-9
56. Campanac E., Gasselín C., Baude A., Rama S., Ankri N. i Debanne D. (2013). Enhanced intrinsic excitability in basket cells maintains excitatory-inhibitory balance in hippocampal circuits. *Neuron*, 77(4), 712–722. DOI:10.1016/j.neuron.2012.12.020
57. Campanac E. i Hoffman D. A. (2013). Repeated cocaine exposure increases fast-spiking interneuron excitability in the rat medial prefrontal cortex. *Journal of Neurophysiology*, 109(11), 2781–2792. DOI:10.1152/jn.00596.2012
58. Canto-Bustos M., Friason F. K., Bassi C. i Oswald A.-M. M. (2022). Disinhibitory circuitry gates associative synaptic plasticity in olfactory cortex. *The Journal of Neuroscience*, 42(14), 2942–2950. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1369-21.2021
59. Cao W., Lin S., Xia Q., Du Y., Yang Q., Zhang M., Lu Y., Xu J., Duan S., Xia J., Feng G., Xu J. i Luo J. (2018). Gamma oscillation dysfunction in mPFC leads to social deficits in neuroligin 3 R451C knockin mice. *Neuron*, 97(6), 1253-1260.e7.
DOI:10.1016/j.neuron.2018.02.001
60. Caporale N. i Dan Y. (2008). Spike timing–dependent plasticity: a Hebbian learning rule. *Annual Review of Neuroscience*, 31(1), 25–46.
DOI:10.1146/annurev.neuro.31.060407.125639
61. Caputi A., Rozov A., Blatow M. i Monyer H. (2009). Two calretinin-positive GABAergic cell types in layer 2/3 of the mouse neocortex provide different forms of inhibition. *Cerebral Cortex*, 19(6), 1345–1359. DOI:10.1093/cercor/bhn175
62. Cardin J. A., Carlén M., Meletis K., Knoblich U., Zhang F., Deisseroth K., Tsai L.-H. i Moore C. I. (2009). Driving fast-spiking cells induces gamma rhythm and controls sensory responses. *Nature*, 459(7247), 663–667. DOI:10.1038/nature08002

63. Carlén M., Meletis K., Siegle J. H., Cardin J. A., Futai K., Vierling-Claassen D., Rühlmann C., Jones S. R., Deisseroth K., Sheng M., Moore C. I. i Tsai L.-H. (2012). A critical role for NMDA receptors in parvalbumin interneurons for gamma rhythm induction and behavior. *Molecular Psychiatry*, 17(5), 537–548. DOI:10.1038/mp.2011.31
64. Carrasquillo Y., Burkhalter A. i Nerbonne J. M. (2012). A-type K⁺ channels encoded by Kv4.2, Kv4.3 and Kv1.4 differentially regulate intrinsic excitability of cortical pyramidal neurons. *The Journal of Physiology*, 590(16), 3877–3890. DOI:10.1113/jphysiol.2012.229013
65. Carvell G. i Simons D. (1996). Abnormal tactile experience early in life disrupts active touch. *The Journal of Neuroscience*, 16(8), 2750–2757. DOI:10.1523/JNEUROSCI.16-08-02750.1996
66. Castro-Alamancos M. A. (2004). Absence of rapid sensory adaptation in neocortex during information processing states. *Neuron*, 41(3), 455–464. DOI:10.1016/S0896-6273(03)00853-5
67. Cauli B., Audinat E., Lambolez B., Angulo M. C., Ropert N., Tsuzuki K., Hestrin S. i Rossier J. (1997). Molecular and physiological diversity of cortical nonpyramidal cells. *The Journal of Neuroscience*, 17(10), 3894–3906. DOI:10.1523/JNEUROSCI.17-10-03894.1997
68. Cauli B., Zhou X., Tricoire L., Toussay X. i Staiger J. F. (2014). Revisiting enigmatic cortical calretinin-expressing interneurons. *Frontiers in Neuroanatomy*, 8(June), 52. DOI:10.3389/fnana.2014.00052
69. Cea-del Rio C. A., Lawrence J. J., Tricoire L., Erdelyi F., Szabo G. i McBain C. J. (2010). M3 muscarinic acetylcholine receptor expression confers differential cholinergic modulation to neurochemically distinct hippocampal basket cell subtypes. *Journal of Neuroscience*, 30(17), 6011–6024. DOI:10.1523/JNEUROSCI.5040-09.2010
70. Celikel T., Szostak V. A. i Feldman D. E. (2004). Modulation of spike timing by sensory deprivation during induction of cortical map plasticity. *Nature Neuroscience*, 7(5), 534–541. DOI:10.1038/nn1222
71. Chamberlin N. L. i Dingledine R. (1988). GABAergic inhibition and the induction of spontaneous epileptiform activity by low chloride and high potassium in the hippocampal slice. *Brain Research*, 445(1), 12–18. DOI:10.1016/0006-8993(88)91068-2
72. Chang W., Kanda H., Ikeda R., Ling J., DeBerry J. J. i Gu J. G. (2016). Merkel disc is a serotonergic synapse in the epidermis for transmitting tactile signals in mammals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(37), E5491–E5500. DOI:10.1073/pnas.1610176113

73. Chen B. T., Yau H.-J., Hatch C., Kusumoto-Yoshida I., Cho S. L., Hopf F. W. i Bonci A. (2013). Rescuing cocaine-induced prefrontal cortex hypoactivity prevents compulsive cocaine seeking. *Nature*, 496(7445), 359–362. DOI:10.1038/nature12024
74. Chen D., Wang C., Li M., She X., Yuan Y., Chen H., Zhang W. i Zhao C. (2019). Loss of *Foxg1* impairs the development of cortical SST-interneurons leading to abnormal emotional and social behaviors. *Cerebral Cortex*, 29(8), 3666–3682. DOI:10.1093/cercor/bhz114
75. Chen K., Zhang L., Tan M., Lai C. S. W., Li A., Ren C. i So K.-F. (2017). Treadmill exercise suppressed stress-induced dendritic spine elimination in mouse barrel cortex and improved working memory via BDNF/TrkB pathway. *Translational Psychiatry*, 7(3), e1069. DOI:10.1038/tp.2017.41
76. Chen L., Cummings K. A., Mau W., Zaki Y., Dong Z., Rabinowitz S., Clem R. L., Shuman T. i Cai D. J. (2020). The role of intrinsic excitability in the evolution of memory: significance in memory allocation, consolidation, and updating. *Neurobiology of Learning and Memory*, 173(September), 107266. DOI:10.1016/j.nlm.2020.107266
77. Chen S. X., Kim A. N., Peters A. J. i Komiyama T. (2015). Subtype-specific plasticity of inhibitory circuits in motor cortex during motor learning. *Nature Neuroscience*, 18(8), 1109–1115. DOI:10.1038/nn.4049
78. Chiaia N. L., Rhoades R. W., Bennett-Clarke C. A., Fish S. E. i Killackey H. P. (1991). Thalamic processing of vibrissal information in the rat. I. Afferent input to the medial ventral posterior and posterior nuclei. *The Journal of Comparative Neurology*, 314(2), 201–216. DOI:10.1002/cne.903140202
79. Chmielowska J., Carvell G. E. i Simons D. J. (1989). Spatial organization of thalamocortical and corticothalamic projection systems in the rat SmI barrel cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 285(3), 325–338. DOI:10.1002/cne.902850304
80. Cho K. K. A., Davidson T. J., Bouvier G., Marshall J. D., Schnitzer M. J. i Sohal V. S. (2020). Cross-hemispheric gamma synchrony between prefrontal parvalbumin interneurons supports behavioral adaptation during rule shift learning. *Nature Neuroscience*, 23(7), 892–902. DOI:10.1038/s41593-020-0647-1
81. Chow A., Erisir A., Farb C., Nadal M. S., Ozaita A., Lau D., Welker E. i Rudy B. (1999). K⁺ channel expression distinguishes subpopulations of parvalbumin- and somatostatin-containing neocortical interneurons. *The Journal of Neuroscience*, 19(21), 9332–9345. DOI:10.1523/JNEUROSCI.19-21-09332.1999
82. Chua H. C., Wulf M., Weidling C., Rasmussen L. P. i Pless S. A. (2020). The NALCN channel complex is voltage sensitive and directly modulated by extracellular calcium. *Science Advances*, 6(17), eaaz3154. DOI:10.1126/sciadv.aaz3154

83. Chung S., Li X. i Nelson S. B. (2002). Short-term depression at thalamocortical synapses contributes to rapid adaptation of cortical sensory responses in vivo. *Neuron*, 34(3), 437–446. DOI:10.1016/S0896-6273(02)00659-1
84. Citri A. i Malenka R. C. (2008). Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 33(1), 18–41. DOI:10.1038/sj.npp.1301559
85. Cohen A. S., Coussens C. M., Raymond C. R. i Abraham W. C. (1999). Long-lasting increase in cellular excitability associated with the priming of LTP induction in rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 82(6), 3139–3148. DOI:10.1152/jn.1999.82.6.3139
86. Collingridge G. L., Peineau S., Howland J. G. i Wang Y. T. (2010). Long-term depression in the CNS. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(7), 459–473. DOI:10.1038/nrn2867
87. Costa R. M., Federov N. B., Kogan J. H., Murphy G. G., Stern J., Ohno M., Kucherlapati R., Jacks T. i Silva A. J. (2002). Mechanism for the learning deficits in a mouse model of neurofibromatosis type 1. *Nature*, 415(6871), 526–530. DOI:10.1038/nature711
88. Cousineau J., Lescouzères L., Taupignon A., Delgado-Zabalza L., Valjent E., Baufreton J. i Le Bon-Jégo M. (2020). Dopamine D2-like receptors modulate intrinsic properties and synaptic transmission of parvalbumin interneurons in the mouse primary motor cortex. *eNeuro*, 7(3), ENEURO.0081-20.2020. DOI:10.1523/ENEURO.0081-20.2020
89. Cowan A. I. i Stricker C. (2004). Functional connectivity in layer IV local excitatory circuits of rat somatosensory cortex. *Journal of Neurophysiology*, 92(4), 2137–2150. DOI:10.1152/jn.01262.2003
90. Cruikshank S. J., Urabe H., Nurmikko A. V. i Connors B. W. (2010). Pathway-specific feedforward circuits between thalamus and neocortex revealed by selective optical stimulation of axons. *Neuron*, 65(2), 230–245. DOI:10.1016/j.neuron.2009.12.025
91. Cummings K. A., Bayshtok S., Dong T. N., Kenny P. J. i Clem R. L. (2022). Control of fear by discrete prefrontal GABAergic populations encoding valence-specific information. *Neuron*, 110(18), 3036-3052.e5. DOI:10.1016/j.neuron.2022.07.004
92. Cummings K. A. i Clem R. L. (2020). Prefrontal somatostatin interneurons encode fear memory. *Nature Neuroscience*, 23(1), 61–74. DOI:10.1038/s41593-019-0552-7
93. Cunha-Reis D. i Caulino-Rocha A. (2020). VIP modulation of hippocampal synaptic plasticity: a role for VIP receptors as therapeutic targets in cognitive decline and mesial temporal lobe epilepsy. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14(June), 153. DOI:10.3389/fncel.2020.00153
94. Cybulska-Klosowicz A., Posluszny A., Nowak K., Siucinska E., Kossut M. i Liguz-Leczna M. (2013). Interneurons containing somatostatin are affected by learning-induced cortical plasticity. *Neuroscience*, 254, 18–25. DOI:10.1016/j.neuroscience.2013.09.020
95. Daoudal G. i Debanne D. (2003). Long-term plasticity of intrinsic excitability: learning rules and mechanisms. *Learning & Memory*, 10(6), 456–465. DOI:10.1101/lm.64103

96. Daoudal G., Hanada Y. i Debanne D. (2002). Bidirectional plasticity of excitatory postsynaptic potential (EPSP)-spike coupling in CA1 hippocampal pyramidal neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(22), 14512–14517. DOI:10.1073/pnas.222546399
97. Davis G. W. i Müller M. (2015). Homeostatic control of presynaptic neurotransmitter release. *Annual Review of Physiology*, 77(1), 251–270. DOI:10.1146/annurev-physiol-021014-071740
98. Day M., Carr D. B., Ulrich S., Ilijic E., Tkatch T. i Surmeier D. J. (2005). Dendritic excitability of mouse frontal cortex pyramidal neurons is shaped by the interaction among HCN, Kir2, and K_{leak} channels. *Journal of Neuroscience*, 25(38), 8776–8787. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2650-05.2005
99. de Belle J. S. i Heisenberg M. (1994). Associative odor learning in *Drosophila* abolished by chemical ablation of mushroom bodies. *Science*, 263(5147), 692–695. DOI:10.1126/science.8303280
100. De Stasi A. M., Farisello P., Marcon I., Cavallari S., Forli A., Vecchia D., Losi G., Mantegazza M., Panzeri S., Carmignoto G., Bacci A. i Fellin T. (2016). Unaltered network activity and interneuronal firing during spontaneous cortical dynamics in vivo in a mouse model of severe myoclonic epilepsy of infancy. *Cerebral Cortex*, 26(4), 1778–1794. DOI:10.1093/cercor/bhw002
101. Deans M. R., Gibson J. R., Sellitto C., Connors B. W. i Paul D. L. (2001). Synchronous activity of inhibitory networks in neocortex requires electrical synapses containing connexin36. *Neuron*, 31(3), 477–485. DOI:10.1016/S0896-6273(01)00373-7
102. Debanne D., Gähwiler B. H. i Thompson S. M. (1994). Asynchronous pre- and postsynaptic activity induces associative long-term depression in area CA1 of the rat hippocampus *in vitro*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(3), 1148–1152. DOI:10.1073/pnas.91.3.1148
103. Debanne D., Gähwiler B. H. i Thompson S. M. (1997). Bidirectional associative plasticity of unitary CA3-CA1 EPSPs in the rat hippocampus *in vitro*. *Journal of Neurophysiology*, 77(5), 2851–2855. DOI:10.1152/jn.1997.77.5.2851
104. Debanne D., Inglebert Y. i Russier M. (2019). Plasticity of intrinsic neuronal excitability. *Current Opinion in Neurobiology*, 54, 73–82. DOI:10.1016/j.conb.2018.09.001
105. DeFelipe J. (1997). Types of neurons, synaptic connections and chemical characteristics of cells immunoreactive for calbindin-D28k, parvalbumin and calretinin in the neocortex. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 14(1), 1–19. DOI:10.1016/S0891-0618(97)10013-8
106. DeFelipe J. i Fariñas I. (1992). The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs. *Progress in Neurobiology*, 39(6), 563–607. DOI:10.1016/0301-0082(92)90015-7

107. DeFelipe J., López-Cruz P. L., Benavides-Piccione R., Bielza C., Larrañaga P., Anderson S., Burkhalter A., Cauli B., Fairén A., Feldmeyer D., Fishell G., Fitzpatrick D., Freund T. F., González-Burgos G., Hestrin S., Hill S., Hof P. R., ... Ascoli G. A. (2013). New insights into the classification and nomenclature of cortical GABAergic interneurons. *Nature Reviews Neuroscience*, *14*(3), 202–216. DOI:10.1038/nrn3444
108. del Pino I., García-Frigola C., Dehorter N., Brotons-Mas J. R., Alvarez-Salvado E., Martínez de Lagrán M., Ciceri G., Gabaldón M. V., Moratal D., Dierssen M., Canals S., Marín O. i Rico B. (2013). *ErbB4* deletion from fast-spiking interneurons causes schizophrenia-like phenotypes. *Neuron*, *79*(6), 1152–1168. DOI:10.1016/j.neuron.2013.07.010
109. del Río M. R. i DeFelipe J. (1997). Colocalization of parvalbumin and calbindin D-28k in neurons including chandelier cells of the human temporal neocortex. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, *12*(3), 165–173. DOI:10.1016/S0891-0618(96)00191-3
110. Demas G. E., Nelson R. J., Krueger B. K. i Yarowsky P. J. (1998). Impaired spatial working and reference memory in segmental trisomy (Ts65Dn) mice. *Behavioural Brain Research*, *90*(2), 199–201. DOI:10.1016/S0166-4328(97)00116-2
111. Demeulemeester H., Arckens L., Vandesande F., Orban G. A., Heizmann C. W. i Pochet R. (1991). Calcium binding proteins and neuropeptides as molecular markers of GABAergic interneurons in the cat visual cortex. *Experimental Brain Research*, *84*(3), 538–544. DOI:10.1007/BF00230966
112. Deng P.-Y., Xiao Z., Yang C., Rojanathammanee L., Grisanti L., Watt J., Geiger J. D., Liu R., Porter J. E. i Lei S. (2009). GABAB receptor activation inhibits neuronal excitability and spatial learning in the entorhinal cortex by activating TREK-2 K⁺ channels. *Neuron*, *63*(2), 230–243. DOI:10.1016/j.neuron.2009.06.022
113. Derkach V., Barria A. i Soderling T. R. (1999). Ca²⁺/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *96*(6), 3269–3274. DOI:10.1073/pnas.96.6.3269
114. Desai N. S., Rutherford L. C. i Turrigiano G. G. (1999). Plasticity in the intrinsic excitability of cortical pyramidal neurons. *Nature Neuroscience*, *2*(6), 515–520. DOI:10.1038/9165
115. Devonshire I. M., Mayhew J. E. W. i Overton P. G. (2007). Cocaine preferentially enhances sensory processing in the upper layers of the primary sensory cortex. *Neuroscience*, *146*(2), 841–851. DOI:10.1016/j.neuroscience.2007.01.070
116. Dickson L. i Finlayson K. (2009). VPAC and PAC receptors: from ligands to function. *Pharmacology and Therapeutics*, *121*(3), 294–316. DOI:10.1016/j.pharmthera.2008.11.006

117. Dingledine R. i Somjen G. (1981). Calcium dependence of synaptic transmission in the hippocampal slice. *Brain Research*, 207(1), 218–222. DOI:10.1016/0006-8993(81)90697-1
118. Dobrzanski G., Lukomska A., Zakrzewska R., Posluszny A., Kanigowski D., Urban-Ciecko J., Liguz-Leczna M. i Kossut M. (2022). Learning-induced plasticity in the barrel cortex is disrupted by inhibition of layer 4 somatostatin-containing interneurons. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1869(1), 119146. DOI:10.1016/j.bbamcr.2021.119146
119. Domenici M. R., Azad S. C., Marsicano G., Schierloh A., Wotjak C. T., Dodt H. U., Zieglgänsberger W., Lutz B. i Rammes G. (2006). Cannabinoid receptor type 1 located on presynaptic terminals of principal neurons in the forebrain controls glutamatergic synaptic transmission. *Journal of Neuroscience*, 26(21), 5794–5799. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0372-06.2006
120. Donato F., Rompani S. B. i Caroni P. (2013). Parvalbumin-expressing basket-cell network plasticity induced by experience regulates adult learning. *Nature*, 504(7479), 272–276. DOI:10.1038/nature12866
121. Dörfl J. (1985). The innervation of the mystacial region of the white mouse: a topographical study. *Journal of Anatomy*, 142, 173–184. PMID: 17103584
122. Druart M., Nosten-Bertrand M., Poll S., Crux S., Nebeling F., Delhaye C., Dubois Y., Mittag M., Leboyer M., Tamouza R., Fuhrmann M. i Le Magueresse C. (2021). Elevated expression of complement C4 in the mouse prefrontal cortex causes schizophrenia-associated phenotypes. *Molecular Psychiatry*, 26(7), 3489–3501. DOI:10.1038/s41380-021-01081-6
123. Druga R. (2009). Neocortical inhibitory system. *Folia Biologica*, 55(6), 201–217. PMID: 20163769
124. Dudek S. M. i Bear M. F. (1992). Homosynaptic long-term depression in area CA1 of hippocampus and effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(10), 4363–4367. DOI:10.1073/pnas.89.10.4363
125. Duffy S. N., Craddock K. J., Abel T. i Nguyen P. V. (2001). Environmental enrichment modifies the PKA-dependence of hippocampal LTP and improves hippocampus-dependent memory. *Learning & Memory*, 8(1), 26–34. DOI:10.1101/lm.36301
126. Dunn A. R., Neuner S. M., Ding S., Hope K. A., O’Connell K. M. S. i Kaczorowski C. C. (2018). Cell-type-specific changes in intrinsic excitability in the subiculum following learning and exposure to novel environmental contexts. *eNeuro*, 5(6), ENEURO.0484-18.2018. DOI:10.1523/ENEURO.0484-18.2018

127. Dunwiddie T. i Lynch G. (1978). Long-term potentiation and depression of synaptic responses in the rat hippocampus: localization and frequency dependency. *The Journal of Physiology*, 276(1), 353–367. DOI:10.1113/jphysiol.1978.sp012239
128. Ebara S., Kumamoto K., Matsuura T., Mazurkiewicz J. E. i Rice F. L. (2002). Similarities and differences in the innervation of mystacial vibrissal follicle-sinus complexes in the rat and cat: a confocal microscopic study. *The Journal of Comparative Neurology*, 449(2), 103–119. DOI:10.1002/cne.10277
129. Ehlers M. D. (2000). Reinsertion or degradation of AMPA receptors determined by activity-dependent endocytic sorting. *Neuron*, 28(2), 511–525. DOI:10.1016/S0896-6273(00)00129-X
130. El-Boustani S., Sermet B. S., Foustoukos G., Oram T. B., Yizhar O. i Petersen C. C. H. (2020). Anatomically and functionally distinct thalamocortical inputs to primary and secondary mouse whisker somatosensory cortices. *Nature Communications*, 11, 3342. DOI:10.1038/s41467-020-17087-7
131. Engbers J. D. T., Anderson D., Asmara H., Rehak R., Mehaffey W. H., Hameed S., McKay B. E., Kruskic M., Zamponi G. W. i Turner R. W. (2012). Intermediate conductance calcium-activated potassium channels modulate summation of parallel fiber input in cerebellar Purkinje cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(7), 2601–2606. DOI:10.1073/pnas.1115024109
132. Epelbaum J., Dournaud P., Fodor M. i Viollet C. (1994). The neurobiology of somatostatin. *Critical Reviews in Neurobiology*, 8(1–2), 25–44. PMID: 7907281
133. Erzurumlu R. S., Bates C. A. i Killackey H. P. (1980). Differential organization of thalamic projection cells in the brain stem trigeminal complex of the rat. *Brain Research*, 198(2), 427–433. DOI:10.1016/0006-8993(80)90756-8
134. Erzurumlu R. S. i Gaspar P. (2012). Development and critical period plasticity of the barrel cortex. *European Journal of Neuroscience*, 35(10), 1540–1553. DOI:10.1111/j.1460-9568.2012.08075.x
135. Erzurumlu R. S., Murakami Y. i Rijli F. M. (2010). Mapping the face in the somatosensory brainstem. *Nature Reviews Neuroscience*, 11(4), 252–263. DOI:10.1038/nrn2804
136. Fan J., Zeng H., Olson D. P., Huber K. M., Gibson J. R. i Takahashi J. S. (2015). Vasoactive intestinal polypeptide (VIP)-expressing neurons in the suprachiasmatic nucleus provide sparse GABAergic outputs to local neurons with circadian regulation occurring distal to the opening of postsynaptic GABAA ionotropic receptors. *Journal of Neuroscience*, 35(5), 1905–1920. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2661-14.2015
137. Fan Y., Deng P., Wang Y.-C., Lu H.-C., Xu Z. C. i Schulz P. E. (2008). Transient cerebral ischemia increases CA1 pyramidal neuron excitability. *Experimental Neurology*, 212(2), 415–421. DOI:10.1016/j.expneurol.2008.04.032

138. Favuzzi E., Marques-Smith A., Deogracias R., Winterflood C. M., Sánchez-Aguilera A., Mantoan L., Maeso P., Fernandes C., Ewers H. i Rico B. (2017). Activity-dependent gating of parvalbumin interneuron function by the perineuronal net protein brevican. *Neuron*, 95(3), 639-655.e10. DOI:10.1016/j.neuron.2017.06.028
139. Feldman D. E. (2000). Timing-based LTP and LTD at vertical inputs to layer II/III pyramidal cells in rat barrel cortex. *Neuron*, 27(1), 45–56. DOI:10.1016/S0896-6273(00)00008-8
140. Feldman D. E. (2012). The spike-timing dependence of plasticity. *Neuron*, 75(4), 556–571. DOI:10.1016/j.neuron.2012.08.001
141. Feldmeyer D., Brecht M., Helmchen F., Petersen C. C. H., Poulet J. F. A., Staiger J. F., Luhmann H. J. i Schwarz C. (2013). Barrel cortex function. *Progress in Neurobiology*, 103, 3–27. DOI:10.1016/j.pneurobio.2012.11.002
142. Feng X.-Y., Hu H.-D., Chen J., Long C., Yang L. i Wang L. (2021). Acute neuroinflammation increases excitability of prefrontal parvalbumin interneurons and their functional recruitment during novel object recognition. *Brain, Behavior, and Immunity*, 98(March), 48–58. DOI:10.1016/j.bbi.2021.08.216
143. Ferranti A. S., Johnson K. A., Winder D. G., Conn P. J. i Joffe M. E. (2022). Prefrontal cortex parvalbumin interneurons exhibit decreased excitability and potentiated synaptic strength after ethanol reward learning. *Alcohol*, 101, 17–26. DOI:10.1016/j.alcohol.2022.02.003
144. Finnerty G. T., Roberts L. S. E. i Connors B. W. (1999). Sensory experience modifies the short-term dynamics of neocortical synapses. *Nature*, 400(6742), 367–371. DOI:10.1038/22553
145. Ford K. J., Arroyo D. A., Kay J. N., Lloyd E. E., Bryan R. M., Sanes J. R. i Feller M. B. (2013). A role for TREK1 in generating the slow afterhyperpolarization in developing starburst amacrine cells. *Journal of Neurophysiology*, 109(9), 2250–2259. DOI:10.1152/jn.01085.2012
146. Ford N. C., Ren D. i Baccei M. L. (2018). NALCN channels enhance the intrinsic excitability of spinal projection neurons. *Pain*, 159(9), 1719–1730. DOI:10.1097/j.pain.0000000000001258
147. Francavilla R., Guet-McCreight A., Amalyan S., Hui C. W., Topolnik D., Michaud F., Marino B., Tremblay M.-È., Skinner F. K. i Topolnik L. (2020). Alterations in intrinsic and synaptic properties of hippocampal CA1 VIP interneurons during aging. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14(October), 554405. DOI:10.3389/fncel.2020.554405

148. Francis T. C., Chandra R., Friend D. M., Finkel E., Dayrit G., Miranda J., Brooks J. M., Iñiguez S. D., O'Donnell P., Kravitz A. i Lobo M. K. (2015). Nucleus accumbens medium spiny neuron subtypes mediate depression-related outcomes to social defeat stress. *Biological Psychiatry*, 77(3), 212–222. DOI:10.1016/j.biopsych.2014.07.021
149. Freund T. F., Martin K. A. C., Smith A. D. i Somogyi P. (1983). Glutamate decarboxylase-immunoreactive terminals of Golgi-impregnated axoaxonic cells and of presumed basket cells in synaptic contact with pyramidal neurons of the cat's visual cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 221(3), 263–278. DOI:10.1002/cne.902210303
150. Frick A. i Johnston D. (2005). Plasticity of dendritic excitability. *Journal of Neurobiology*, 64(1), 100–115. DOI:10.1002/neu.20148
151. Frick A., Magee J. i Johnston D. (2004). LTP is accompanied by an enhanced local excitability of pyramidal neuron dendrites. *Nature Neuroscience*, 7(2), 126–135. DOI:10.1038/nn1178
152. Fuchs T., Jefferson S. J., Hooper A., Yee P.-H., Maguire J. i Luscher B. (2017). Disinhibition of somatostatin-positive GABAergic interneurons results in an anxiolytic and antidepressant-like brain state. *Molecular Psychiatry*, 22(6), 920–930. DOI:10.1038/mp.2016.188
153. Gabernet L., Jadhav S. P., Feldman D. E., Carandini M. i Scanziani M. (2005). Somatosensory integration controlled by dynamic thalamocortical feed-forward inhibition. *Neuron*, 48(2), 315–327. DOI:10.1016/j.neuron.2005.09.022
154. Gainey M. A., Aman J. W. i Feldman D. E. (2018). Rapid disinhibition by adjustment of PV intrinsic excitability during whisker map plasticity in mouse S1. *The Journal of Neuroscience*, 38(20), 4749–4761. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3628-17.2018
155. Gandal M. J., Sisti J., Klook K., Ortinski P. I., Leitman V., Liang Y., Thieu T., Anderson R., Pierce R. C., Jonak G., Gur R. E., Carlson G. i Siegel S. J. (2012). GABAB-mediated rescue of altered excitatory–inhibitory balance, gamma synchrony and behavioral deficits following constitutive NMDAR-hypofunction. *Translational Psychiatry*, 2(7), e142. DOI:10.1038/tp.2012.69
156. Garcia-Junco-Clemente P., Ikrar T., Tring E., Xu X., Ringach D. L. i Trachtenberg J. T. (2017). An inhibitory pull–push circuit in frontal cortex. *Nature Neuroscience*, 20(3), 389–392. DOI:10.1038/nn.4483
157. Gasparini S. (2011). Distance- and activity-dependent modulation of spike back-propagation in layer V pyramidal neurons of the medial entorhinal cortex. *Journal of Neurophysiology*, 105(3), 1372–1379. DOI:10.1152/jn.00014.2010
158. Gasselin C., Inglebert Y., Ankri N. i Debanne D. (2017). Plasticity of intrinsic excitability during LTD is mediated by bidirectional changes in h-channel activity. *Scientific Reports*, 7(1), 14418. DOI:10.1038/s41598-017-14874-z

159. Gibson J. R., Beierlein M. i Connors B. W. (1999). Two networks of electrically coupled inhibitory neurons in neocortex. *Nature*, 402(6757), 75–79. DOI:10.1038/47035
160. Gierdalski M., Jablonska B., Siucinska E., Lech M., Skibinska A. i Kossut M. (2001). Rapid regulation of GAD67 mRNA and protein level in cortical neurons after sensory learning. *Cerebral Cortex*, 11(9), 806–815. DOI:10.1093/cercor/11.9.806
161. Giese K. P., Fedorov N. B., Filipkowski R. K. i Silva A. J. (1998). Autophosphorylation at Thr 286 of the α calcium-calmodulin kinase II in LTP and learning. *Science*, 279(5352), 870–873. DOI:10.1126/science.279.5352.870
162. Goff K. M. i Goldberg E. M. (2019). Vasoactive intestinal peptide-expressing interneurons are impaired in a mouse model of Dravet syndrome. *eLife*, 8, e46846. DOI:10.7554/eLife.46846
163. Goldberg E. M., Clark B. D., Zagha E., Nahmani M., Erisir A. i Rudy B. (2008). K⁺ channels at the axon initial segment dampen near-threshold excitability of neocortical fast-spiking GABAergic interneurons. *Neuron*, 58(3), 387–400. DOI:10.1016/j.neuron.2008.03.003
164. Goldberg J. H., Lacefield C. O. i Yuste R. (2004). Global dendritic calcium spikes in mouse layer 5 low threshold spiking interneurons: implications for control of pyramidal cell bursting. *Journal of Physiology*, 558(2), 465–478. DOI:10.1113/jphysiol.2004.064519
165. Goldstein S. A. N., Bockenbauer D., O’Kelly I. i Zilberberg N. (2001). Potassium leak channels and the KCNK family of two-p-domain subunits. *Nature Reviews Neuroscience*, 2(3), 175–184. DOI:10.1038/35058574
166. Gonchar Y. (2008). Multiple distinct subtypes of GABAergic neurons in mouse visual cortex identified by triple immunostaining. *Frontiers in Neuroanatomy*, 1(March), 3. DOI:10.3389/neuro.05.003.2007
167. Goodwill H. L., Manzano-Nieves G., LaChance P., Teramoto S., Lin S., Lopez C., Stevenson R. J., Theyel B. B., Moore C. I., Connors B. W. i Bath K. G. (2018). Early life stress drives sex-selective impairment in reversal learning by affecting parvalbumin interneurons in orbitofrontal cortex of mice. *Cell Reports*, 25(9), 2299-2307.e4. DOI:10.1016/j.celrep.2018.11.010
168. Gordon J. A. i Stryker M. P. (1996). Experience-dependent plasticity of binocular responses in the primary visual cortex of the mouse. *The Journal of Neuroscience*, 16(10), 3274–3286. DOI:10.1523/JNEUROSCI.16-10-03274.1996
169. Gould N. L., Kolatt Chandran S., Kayyal H., Edry E. i Rosenblum K. (2021). Somatostatin interneurons of the insula mediate QR2-dependent novel taste memory enhancement. *eNeuro*, 8(5), ENEURO.0152-21.2021. DOI:10.1523/ENEURO.0152-21.2021

170. Gouwens N. W., Sorensen S. A., Baftizadeh F., Budzillo A., Lee B. R., Jarsky T., Alfiler L., Baker K., Barkan E., Berry K., Bertagnolli D., Bickley K., Bomben J., Braun T., Brouner K., Casper T., Crichton K., ... Zeng H. (2020). Integrated morphoelectric and transcriptomic classification of cortical GABAergic cells. *Cell*, 183(4), 935-953.e19. DOI:10.1016/j.cell.2020.09.057
171. Gozes I. i Brenneman D. E. (1989). VIP: molecular biology and neurobiological function. *Molecular Neurobiology*, 3(4), 201–236. DOI:10.1007/BF02740606
172. Gu N., Vervaeke K., Hu H. i Storm J. F. (2005). Kv7/KCNQ/M and HCN/h, but not K Ca 2/SK channels, contribute to the somatic medium after-hyperpolarization and excitability control in CA1 hippocampal pyramidal cells. *The Journal of Physiology*, 566(3), 689–715. DOI:10.1113/jphysiol.2005.086835
173. Gu N., Vervaeke K. i Storm J. F. (2007). BK potassium channels facilitate high-frequency firing and cause early spike frequency adaptation in rat CA1 hippocampal pyramidal cells. *The Journal of Physiology*, 580(3), 859–882. DOI:10.1113/jphysiol.2006.126367
174. Guan D., Armstrong W. E. i Foehring R. C. (2013). Kv2 channels regulate firing rate in pyramidal neurons from rat sensorimotor cortex. *The Journal of Physiology*, 591(19), 4807–4825. DOI:10.1113/jphysiol.2013.257253
175. Guet-McCreight A., Skinner F. K. i Topolnik L. (2020). Common principles in functional organization of VIP/calretinin cell-driven disinhibitory circuits across cortical areas. *Frontiers in Neural Circuits*, 14(June), 32. DOI:10.3389/fncir.2020.00032
176. Guo Y., Su Z., Chen Y. i Chai Z. (2017). Brain-derived neurotrophic factor/neurotrophin 3 regulate axon initial segment location and affect neuronal excitability in cultured hippocampal neurons. *Journal of Neurochemistry*, 142(2), 260–271. DOI:10.1111/jnc.14050
177. Gupta A., Wang Y. i Markram H. (2000). Organizing principles for a diversity of GABAergic interneurons and synapses in the neocortex. *Science*, 287(5451), 273–278. DOI:10.1126/science.287.5451.273
178. Gustafsson B., Wigstrom H., Abraham W. C. i Huang Y. Y. (1987). Long-term potentiation in the hippocampus using depolarizing current pulses as the conditioning stimulus to single volley synaptic potentials. *Journal of Neuroscience*, 7(3), 774–780. DOI:10.1523/jneurosci.07-03-00774.1987
179. Ha G. E. i Cheong E. (2017). Spike frequency adaptation in neurons of the central nervous system. *Experimental Neurobiology*, 26(4), 179–185. DOI:10.5607/en.2017.26.4.179
180. Ha G. E., Lee J., Kwak H., Song K., Kwon J., Jung S.-Y., Hong J., Chang G.-E., Hwang E. M., Shin H.-S., Lee C. J. i Cheong E. (2016). The Ca²⁺-activated chloride channel anoctamin-2 mediates spike-frequency adaptation and regulates sensory transmission in thalamocortical neurons. *Nature Communications*, 7, 13791. DOI:10.1038/ncomms13791

181. Haensch C.-A. (2010). Cerebrospinal fluid magnesium level in different neurological disorders. *Neuroscience and Medicine*, 01(02), 60–63. DOI:10.4236/nm.2010.12009
182. Haidarliu S. (2016). Whisking Musculature. W: Prescott T., Ahissar E., i Izhikevich E. (Red.), *Scholarpedia of Touch* (s. 627–639). Paryż: Wydawnictwo Atlantis Press. ISBN: 978-94-6239-132-1
183. Haji N., Riebe I., Aguilar-Valles A., Artinian J., Laplante I. i Lacaille J.-C. (2020). Tsc1 haploinsufficiency in Nkx2.1 cells upregulates hippocampal interneuron mTORC1 activity, impairs pyramidal cell synaptic inhibition, and alters contextual fear discrimination and spatial working memory in mice. *Molecular Autism*, 11(1), 29. DOI:10.1186/s13229-020-00340-7
184. Han S., Tai C., Westenbroek R. E., Yu F. H., Cheah C. S., Potter G. B., Rubenstein J. L., Scheuer T., de la Iglesia H. O. i Catterall W. A. (2012). Autistic-like behaviour in Scn1a^{+/-} mice and rescue by enhanced GABA-mediated neurotransmission. *Nature*, 489(7416), 385–390. DOI:10.1038/nature11356
185. Harmar A. J., Fahrenkrug J., Gozes I., Laburthe M., May V., Pisegna J. R., Vaudry D., Vaudry H., Waschek J. A. i Said S. I. (2012). Pharmacology and functions of receptors for vasoactive intestinal peptide and pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide: IUPHAR review 1. *British Journal of Pharmacology*, 166(1), 4–17. DOI:10.1111/j.1476-5381.2012.01871.x
186. Harris A. C., Jin X., Greer J. E., Povlishock J. T. i Jacobs K. M. (2022). Somatostatin interneurons exhibit enhanced functional output and resilience to axotomy after mild traumatic brain injury. *Neurobiology of Disease*, 171(September), 105801. DOI:10.1016/j.nbd.2022.105801
187. Harty T. P. i Waxman S. G. (2007). Inactivation properties of sodium channel Nav1.8 maintain action potential amplitude in small DRG neurons in the context of depolarization. *Molecular Pain*, 3, 12. DOI:10.1186/1744-8069-3-12
188. Harvey C. D. i Svoboda K. (2007). Locally dynamic synaptic learning rules in pyramidal neuron dendrites. *Nature*, 450(7173), 1195–1200. DOI:10.1038/nature06416
189. He M., Tucciarone J., Lee S., Nigro M. J., Kim Y., Levine J. M., Kelly S. M., Krugikov I., Wu P., Chen Y., Gong L., Hou Y., Osten P., Rudy B. i Huang Z. J. (2016). Strategies and tools for combinatorial targeting of GABAergic neurons in mouse cerebral cortex. *Neuron*, 91(6), 1228–1243. DOI:10.1016/j.neuron.2016.08.021
190. He X., Li J., Zhou G., Yang J., McKenzie S., Li Y., Li W., Yu J., Wang Y., Qu J., Wu Z., Hu H., Duan S. i Ma H. (2021). Gating of hippocampal rhythms and memory by synaptic plasticity in inhibitory interneurons. *Neuron*, 109(6), 1013-1028.e9. DOI:10.1016/j.neuron.2021.01.014

191. Hebb D. O. (1949). *The Organization of Behavior. A Neuropsychological Theory*. Nowy Jork: Wydawnictwo John Wiley and Sons.
192. Hermanstynne T. O., Simms C. L., Carrasquillo Y., Herzog E. D. i Nerbonne J. M. (2016). Distinct firing properties of vasoactive intestinal peptide-expressing neurons in the suprachiasmatic nucleus. *Journal of Biological Rhythms*, 31(1), 57–67. DOI:10.1177/0748730415619745
193. Hernández-López S., Tkatch T., Perez-Garci E., Galarraga E., Bargas J., Hamm H. i Surmeier D. J. (2000). D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca²⁺ currents and excitability via a novel PLCβ1-IP3-calcineurin-signaling cascade. *Journal of Neuroscience*, 20(24), 8987–8995. DOI:10.1523/jneurosci.20-24-08987.2000
194. Hibino H., Inanobe A., Furutani K., Murakami S., Findlay I. i Kurachi Y. (2010). Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function, and physiological roles. *Physiological Reviews*, 90(1), 291–366. DOI:10.1152/physrev.00021.2009
195. Hijazi S., Heistek T. S., van der Loo R., Mansvelder H. D., Smit A. B. i van Kesteren R. E. (2020). Hyperexcitable parvalbumin interneurons render hippocampal circuitry vulnerable to amyloid beta. *iScience*, 23(7), 101271. DOI:10.1016/j.isci.2020.101271
196. Hill E. L., Gallopin T., Férézou I., Cauli B., Rossier J., Schweitzer P. i Lambolez B. (2007). Functional CB1 receptors are broadly expressed in neocortical GABAergic and glutamatergic neurons. *Journal of Neurophysiology*, 97(4), 2580–2589. DOI:10.1152/jn.00603.2006
197. Hill J. M., Hauser J. M., Sheppard L. M., Abebe D., Spivak-Pohis I., Kushnir M., Deitch I. i Gozes I. (2007). Blockage of VIP during mouse embryogenesis modifies adult behavior and results in permanent changes in brain chemistry. *Journal of Molecular Neuroscience*, 31(3), 183–200. DOI:10.1385/JMN:31:03:185
198. Hill T. C. i Zito K. (2013). LTP-induced long-term stabilization of individual nascent dendritic spines. *Journal of Neuroscience*, 33(2), 678–686. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1404-12.2013
199. Hille B. (2001). The Superfamily of Voltage-Gated Channels. W: *Ionic Channels of Excitable Membranes* (3. wyd., s. 61–93). Sunderland: Wydawnictwo Sinauer Associates Inc. ISBN: 0-87893-321-2
200. Hirose S. (2014). Mutant GABAA Receptor Subunits in Genetic (Idiopathic) Epilepsy. W: Steinlein O. K. (Red.), *Progress in Brain Research* (1. wyd., T. 213, s. 55–85). Amsterdam: Wydawnictwo Elsevier B.V. ISBN: 978-0-444-63326-2
201. Hlushchenko I., Koskinen M. i Hotulainen P. (2016). Dendritic spine actin dynamics in neuronal maturation and synaptic plasticity. *Cytoskeleton*, 73(9), 435–441. DOI:10.1002/cm.21280

202. Holland L. L. i Wagner J. J. (1998). Primed facilitation of homosynaptic long-term depression and depotentiation in rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, *18*(3), 887–894. DOI:10.1523/JNEUROSCI.18-03-00887.1998
203. Holley S. M., Galvan L., Kamdjou T., Cepeda C. i Levine M. S. (2019). Striatal GABAergic interneuron dysfunction in the Q175 mouse model of Huntington’s disease. *European Journal of Neuroscience*, *49*(1), 79–93. DOI:10.1111/ejn.14283
204. Holtmaat A. i Svoboda K. (2009). Experience-dependent structural synaptic plasticity in the mammalian brain. *Nature Reviews Neuroscience*, *10*(9), 647–658. DOI:10.1038/nrn2699
205. Honoré E. (2007). The neuronal background K2P channels: focus on TREK1. *Nature Reviews Neuroscience*, *8*(4), 251–261. DOI:10.1038/nrn2117
206. Hotson J. R. i Prince D. A. (1980). A calcium-activated hyperpolarization follows repetitive firing in hippocampal neurons. *Journal of Neurophysiology*, *43*(2), 409–419. DOI:10.1152/jn.1980.43.2.409
207. Hu H., Cavendish J. Z. i Agmon A. (2013). Not all that glitters is gold: off-target recombination in the somatostatin–IRES-Cre mouse line labels a subset of fast-spiking interneurons. *Frontiers in Neural Circuits*, *7*(December), 195. DOI:10.3389/fncir.2013.00195
208. Huang Y.-Y., Colino A., Selig D. K. i Malenka R. C. (1992). The influence of prior synaptic activity on the induction of long-term potentiation. *Science*, *255*(5045), 730–733. DOI:10.1126/science.1346729
209. Huganir R. L. i Nicoll R. A. (2013). AMPARs and synaptic plasticity: the last 25 years. *Neuron*, *80*(3), 704–717. DOI:10.1016/j.neuron.2013.10.025
210. Ihbe N., Le Priault F., Wang Q., Distler U., Sielaff M., Tenzer S., Thal S. C. i Mittmann T. (2022). Adaptive mechanisms of somatostatin-positive interneurons after traumatic brain injury through a switch of α subunits in L-type voltage-gated calcium channels. *Cerebral Cortex*, *32*(5), 1093–1109. DOI:10.1093/cercor/bhab268
211. Inan M. i Anderson S. A. (2014). The chandelier cell, form and function. *Current Opinion in Neurobiology*, *26*, 142–148. DOI:10.1016/j.conb.2014.01.009
212. Inan M., Blazquez-Llorca L., Merchan-Perez A., Anderson S. A., DeFelipe J. i Yuste R. (2013). Dense and overlapping innervation of pyramidal neurons by chandelier cells. *Journal of Neuroscience*, *33*(5), 1907–1914. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4049-12.2013
213. Incontro S., Sammari M., Azzaz F., Inglebert Y., Ankri N., Russier M., Fantini J. i Debanne D. (2021). Endocannabinoids tune intrinsic excitability in O-LM interneurons by direct modulation of postsynaptic Kv7 channels. *The Journal of Neuroscience*, *41*(46), 9521–9538. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1279-21.2021

214. Inda M. C., DeFelipe J. i Munoz A. (2009). Morphology and distribution of chandelier cell axon terminals in the mouse cerebral cortex and claustramygdaloid complex. *Cerebral Cortex*, *19*(1), 41–54. DOI:10.1093/cercor/bhn057
215. Inoue T. i Imoto K. (2006). Feedforward inhibitory connections from multiple thalamic cells to multiple regular-spiking cells in layer 4 of the somatosensory cortex. *Journal of Neurophysiology*, *96*(4), 1746–1754. DOI:10.1152/jn.00301.2006
216. Jablonka J. A., Burnat K., Witte O. W. i Kossut M. (2010). Remapping of the somatosensory cortex after a photothrombotic stroke: dynamics of the compensatory reorganization. *Neuroscience*, *165*(1), 90–100. DOI:10.1016/j.neuroscience.2009.09.074
217. Jasinska M., Grzegorzczak A., Woznicka O., Jasek E., Kossut M., Barbacka-Surowiak G., Litwin J. A. i Pyza E. (2015). Circadian rhythmicity of synapses in mouse somatosensory cortex. *European Journal of Neuroscience*, *42*(8), 2585–2594. DOI:10.1111/ejn.13045
218. Jasinska M., Siucinska E., Cybulska-Klosowicz A., Pyza E., Furness D. N., Kossut M. i Glazewski S. (2010). Rapid, learning-induced inhibitory synaptogenesis in murine barrel field. *Journal of Neuroscience*, *30*(3), 1176–1184. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2970-09.2010
219. Jasinska M., Siucinska E., Jasek E., Litwin J. A., Pyza E. i Kossut M. (2013). Fear learning increases the number of polyribosomes associated with excitatory and inhibitory synapses in the barrel cortex. *PLoS ONE*, *8*(2), e54301. DOI:10.1371/journal.pone.0054301
220. Jasinska M., Siucinska E., Jasek E., Litwin J. A., Pyza E. i Kossut M. (2016). Effect of associative learning on memory spine formation in mouse barrel cortex. *Neural Plasticity*, *2016*, 9828517. DOI:10.1155/2016/9828517
221. Jiang C., Wang X., Le Q., Liu P., Liu C., Wang Z., He G., Zheng P., Wang F. i Ma L. (2021). Morphine coordinates SST and PV interneurons in the prelimbic cortex to disinhibit pyramidal neurons and enhance reward. *Molecular Psychiatry*, *26*(4), 1178–1193. DOI:10.1038/s41380-019-0480-7
222. Jiang X., Shen S., Cadwell C. R., Berens P., Sinz F., Ecker A. S., Patel S. i Tolias A. S. (2015). Principles of connectivity among morphologically defined cell types in adult neocortex. *Science*, *350*(6264), aac9462. DOI:10.1126/science.aac9462
223. Jorgensen E. T., Gonzalez A. E., Harkness J. H., Hegarty D. M., Thakar A., Burchi D. J., Aadland J. A., Aicher S. A., Sorg B. A. i Brown T. E. (2021). Cocaine memory reactivation induces functional adaptations within parvalbumin interneurons in the rat medial prefrontal cortex. *Addiction Biology*, *26*(3), e12947. DOI:10.1111/adb.12947
224. Josselyn S. A. i Frankland P. W. (2018). Memory allocation: mechanisms and function. *Annual Review of Neuroscience*, *41*(1), 389–413. DOI:10.1146/annurev-neuro-080317-061956

225. Ju J., Liu L., Zhang Y. i Zhou Q. (2019). Effect of age onset on schizophrenia-like phenotypes and underlying mechanisms in model mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 89, 465–474. DOI:10.1016/j.pnpbp.2018.07.015
226. Jung S.-C. i Hoffman D. A. (2009). Biphasic somatic A-type K⁺ channel downregulation mediates intrinsic plasticity in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *PLoS ONE*, 4(8), e6549. DOI:10.1371/journal.pone.0006549
227. Kaczmarek L. K., Aldrich R. W., Chandy K. G., Grissmer S., Wei A. D. i Wulff H. (2017). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. C. Nomenclature and properties of calcium-activated and sodium-activated potassium channels. *Pharmacological Reviews*, 69(1), 1–11. DOI:10.1124/pr.116.012864
228. Kamigaki T. i Dan Y. (2017). Delay activity of specific prefrontal interneuron subtypes modulates memory-guided behavior. *Nature Neuroscience*, 20(6), 854–863. DOI:10.1038/nn.4554
229. Kandel E. R. (2000). Nerve Cells and Behavior. W: Kandel E. R., Schwartz J. H., i Jessell T. M. (Red.), *Principles of Neural Science* (IV, s. 20–36). Nowy Jork: Wydawnictwo McGraw-Hill. ISBN: 0-8385-7701-6
230. Kang Y.-J., Clement E. M., Sumsy S. L., Xiang Y., Park I.-H., Santaniello S., Greenfield L. J., Garcia-Rill E., Smith B. N. i Lee S.-H. (2020). The critical role of persistent sodium current in hippocampal gamma oscillations. *Neuropharmacology*, 162, 107787. DOI:10.1016/j.neuropharm.2019.107787
231. Kang Y.-J., Lee S.-H., Boychuk J. A., Butler C. R., Juras J. A., Cloyd R. A. i Smith B. N. (2022). Adult born dentate granule cell mediated upregulation of feedback inhibition in a mouse model of traumatic brain injury. *The Journal of Neuroscience*, 42(37), 7077–7093. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2263-21.2022
232. Karagiannis A., Gallopin T., David C., Battaglia D., Geoffroy H., Rossier J., Hillman E. M. C., Staiger J. F. i Cauli B. (2009). Classification of NPY-expressing neocortical interneurons. *Journal of Neuroscience*, 29(11), 3642–3659. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0058-09.2009
233. Karnani M. M., Jackson J., Ayzenshtat I., Tucciarone J., Manoocheri K., Snider W. G. i Yuste R. (2016). Cooperative subnetworks of molecularly similar interneurons in mouse neocortex. *Neuron*, 90(1), 86–100. DOI:10.1016/j.neuron.2016.02.037
234. Kasten M. R., Rudy B. i Anderson M. P. (2007). Differential regulation of action potential firing in adult murine thalamocortical neurons by Kv3.2, Kv1, and SK potassium and N-type calcium channels. *Journal of Physiology*, 584(2), 565–582. DOI:10.1113/jphysiol.2007.141135

235. Katsuki H., Kaneko S., Tajima A. i Satoh M. (1991). Separate mechanisms of long-term potentiation in two input systems to CA3 pyramidal neurons of rat hippocampal slices as revealed by the whole-cell patch-clamp technique. *Neuroscience Research*, 12(3), 393–402. DOI:10.1016/0168-0102(91)90070-F
236. Kawaguchi Y. (1993). Physiological, morphological, and histochemical characterization of three classes of interneurons in rat neostriatum. *The Journal of Neuroscience*, 13(11), 4908–4923. DOI:10.1523/JNEUROSCI.13-11-04908.1993
237. Kawaguchi Y. (1995). Physiological subgroups of nonpyramidal cells with specific morphological characteristics in layer II/III of rat frontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 15(4), 2638–2655. DOI:10.1523/JNEUROSCI.15-04-02638.1995
238. Kawaguchi Y. i Kubota Y. (1996). Physiological and morphological identification of somatostatin- or vasoactive intestinal polypeptide-containing cells among GABAergic cell subtypes in rat frontal cortex. *The Journal of Neuroscience*, 16(8), 2701–2715. DOI:10.1523/JNEUROSCI.16-08-02701.1996
239. Kawaguchi Y. i Kubota Y. (1997). GABAergic cell subtypes and their synaptic connections in rat frontal cortex. *Cerebral Cortex*, 7(6), 476–486. DOI:10.1093/cercor/7.6.476
240. Keck T., Keller G. B., Jacobsen R. I., Eysel U. T., Bonhoeffer T. i Hübener M. (2013). Synaptic scaling and homeostatic plasticity in the mouse visual cortex in vivo. *Neuron*, 80(2), 327–334. DOI:10.1016/j.neuron.2013.08.018
241. Khan A. G., Poort J., Chadwick A., Blot A., Sahani M., Mrsic-Flogel T. D. i Hofer S. B. (2018). Distinct learning-induced changes in stimulus selectivity and interactions of GABAergic interneuron classes in visual cortex. *Nature Neuroscience*, 21(6), 851–859. DOI:10.1038/s41593-018-0143-z
242. Khatri V. i Simons D. J. (2006). Angularly nonspecific response suppression in rat barrel cortex. *Cerebral Cortex*, 17(3), 599–609. DOI:10.1093/cercor/bhk006
243. Killackey H. P. i Fleming K. (1985). The role of the principal sensory nucleus in central trigeminal pattern formation. *Developmental Brain Research*, 22(1), 141–145. DOI:10.1016/0165-3806(85)90077-X
244. Kilman V., van Rossum M. C. W. i Turrigiano G. G. (2002). Activity deprivation reduces miniature IPSC amplitude by decreasing the number of postsynaptic GABAA receptors clustered at neocortical synapses. *The Journal of Neuroscience*, 22(4), 1328–1337. DOI:10.1523/JNEUROSCI.22-04-01328.2002
245. Kim B. i Im H. (2021). Chronic nicotine impairs sparse motor learning via striatal fast-spiking parvalbumin interneurons. *Addiction Biology*, 26(3), e12956. DOI:10.1111/adb.12956

246. Kim C. S. i Johnston D. (2015). A1 adenosine receptor-mediated GIRK channels contribute to the resting conductance of CA1 neurons in the dorsal hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 113(7), 2511–2523. DOI:10.1152/jn.00951.2014
247. Kim H., Kim M., Im S.-K. i Fang S. (2018). Mouse Cre-LoxP system: general principles to determine tissue-specific roles of target genes. *Laboratory Animal Research*, 34(4), 147–159. DOI:10.5625/lar.2018.34.4.147
248. Kim J.-N., Koh K.-S., Lee E., Park S.-C. i Song W.-C. (2011). The morphology of the rat vibrissal follicle-sinus complex revealed by three-dimensional computer-aided reconstruction. *Cells Tissues Organs*, 193(3), 207–214. DOI:10.1159/000319394
249. Kim J. J., Foy M. R. i Thompson R. F. (1996). Behavioral stress modifies hippocampal plasticity through N-methyl-D-aspartate receptor activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(10), 4750–4753. DOI:10.1073/pnas.93.10.4750
250. Kirchheim F., Tinnes S., Haas C. A., Stegen M. i Wolfart J. (2013). Regulation of action potential delays via voltage-gated potassium Kv1.1 channels in dentate granule cells during hippocampal epilepsy. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 7(December), 248. DOI:10.3389/fncel.2013.00248
251. Kirov S. A. i Harris K. M. (1999). Dendrites are more spiny on mature hippocampal neurons when synapses are inactivated. *Nature Neuroscience*, 2(10), 878–883. DOI:10.1038/13178
252. Kobayashi Y. i Hensch T. K. (2013). Germline recombination by conditional gene targeting with parvalbumin-Cre lines. *Frontiers in Neural Circuits*, 7(October), 168. DOI:10.3389/fncir.2013.00168
253. Koelbl C., Helmstaedter M., Lübke J. i Feldmeyer D. (2015). A barrel-related interneuron in layer 4 of rat somatosensory cortex with a high intrabarrel connectivity. *Cerebral Cortex*, 25(3), 713–725. DOI:10.1093/cercor/bht263
254. Kosaka T., Katsumaru H., Hama K., Wu J.-Y. i Heizmann C. W. (1987). GABAergic neurons containing the Ca²⁺-binding protein parvalbumin in the rat hippocampus and dentate gyrus. *Brain Research*, 419(1–2), 119–130. DOI:10.1016/0006-8993(87)90575-0
255. Kourrich S. i Thomas M. J. (2009). Similar neurons, opposite adaptations: psychostimulant experience differentially alters firing properties in accumbens core versus shell. *Journal of Neuroscience*, 29(39), 12275–12283. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3028-09.2009
256. Krabbe S., Paradiso E., D’Aquin S., Bitterman Y., Courtin J., Xu C., Yonehara K., Markovic M., Müller C., Eichlisberger T., Gründemann J., Ferraguti F. i Lüthi A. (2019). Adaptive disinhibitory gating by VIP interneurons permits associative learning. *Nature Neuroscience*, 22(11), 1834–1843. DOI:10.1038/s41593-019-0508-y

257. Kress G. J., Dowling M. J., Eisenman L. N. i Mennerick S. (2010). Axonal sodium channel distribution shapes the depolarized action potential threshold of dentate granule neurons. *Hippocampus*, 20(4), 558–571. DOI:10.1002/hipo.20667
258. Kubota Y. (2014). Untangling GABAergic wiring in the cortical microcircuit. *Current Opinion in Neurobiology*, 26, 7–14. DOI:10.1016/j.conb.2013.10.003
259. Kubota Y. i Kawaguchi Y. (1997). Two distinct subgroups of cholecystokinin-immunoreactive cortical interneurons. *Brain Research*, 752(1–2), 175–183. DOI:10.1016/S0006-8993(96)01446-1
260. Kubota Y., Shigematsu N., Karube F., Sekigawa A., Kato S., Yamaguchi N., Hirai Y., Morishima M. i Kawaguchi Y. (2011). Selective coexpression of multiple chemical markers defines discrete populations of neocortical GABAergic neurons. *Cerebral Cortex*, 21(8), 1803–1817. DOI:10.1093/cercor/bhq252
261. Kühn R. i Torres R. M. (2002). Cre/*loxP* Recombination System and Gene Targeting. W: Clarke A. R. (Red.), *Transgenesis Techniques* (2. wyd., T. 180, s. 175–204). New Jersey: Wydawnictwo Humana Press Inc. ISBN: 978-0-89603-696-3
262. Kullander K. i Topolnik L. (2021). Cortical disinhibitory circuits: cell types, connectivity and function. *Trends in Neurosciences*, 44(8), 643–657. DOI:10.1016/j.tins.2021.04.009
263. Kullmann D. M., Moreau A. W., Bakiri Y. i Nicholson E. (2012). Plasticity of inhibition. *Neuron*, 75(6), 951–962. DOI:10.1016/j.neuron.2012.07.030
264. Kuriyama K., Hirouchi M. i Nakayasu H. (1993). Structure and function of cerebral GABAA and GABAB receptors. *Neuroscience Research*, 17(2), 91–99. DOI:10.1016/0168-0102(93)90087-7
265. Lamprecht R. i LeDoux J. (2004). Structural plasticity and memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(1), 45–54. DOI:10.1038/nrn1301
266. Land P. W., Buffer S. A. i Yaskosky J. D. (1995). Barreloids in adult rat thalamus: three-dimensional architecture and relationship to somatosensory cortical barrels. *The Journal of Comparative Neurology*, 355(4), 573–588. DOI:10.1002/cne.903550407
267. Landenberger D. E. (1966). Learning in the pacific starfish *Pisaster giganteus*. *Animal Behaviour*, 14(4), 414–418. DOI:10.1016/S0003-3472(66)80039-8
268. Landers M. i Philip Zeigler H. (2006). Development of rodent whisking: trigeminal input and central pattern generation. *Somatosensory & Motor Research*, 23(1–2), 1–10. DOI:10.1080/08990220600700768
269. Landers M. S. i Sullivan R. M. (1999). Vibrissae-evoked behavior and conditioning before functional ontogeny of the somatosensory vibrissae cortex. *The Journal of Neuroscience*, 19(12), 5131–5137. DOI:10.1523/JNEUROSCI.19-12-05131.1999

270. Lawrence J. J., Saraga F., Churchill J. F., Statland J. M., Travis K. E., Skinner F. K. i McBain C. J. (2006). Somatodendritic Kv7/KCNQ/M channels control interspike interval in hippocampal interneurons. *Journal of Neuroscience*, 26(47), 12325–12338. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3521-06.2006
271. Le Moine C. i Gaspar P. (1998). Subpopulations of cortical GABAergic interneurons differ by their expression of D1 and D2 dopamine receptor subtypes. *Molecular Brain Research*, 58(1–2), 231–236. DOI:10.1016/S0169-328X(98)00118-1
272. Le Roux N., Amar M., Moreau A., Baux G. i Fossier P. (2008). Impaired GABAergic transmission disrupts normal homeostatic plasticity in rat cortical networks. *European Journal of Neuroscience*, 27(12), 3244–3256. DOI:10.1111/j.1460-9568.2008.06288.x
273. Lech M., Skibinska A. i Kossut M. (2001). Delayed upregulation of GABAA alpha1 receptor subunit mRNA in somatosensory cortex of mice following learning-dependent plasticity of cortical representations. *Molecular Brain Research*, 96(1–2), 82–86. DOI:10.1016/S0169-328X(01)00271-6
274. Lee H.-K., Kameyama K., Huganir R. L. i Bear M. F. (1998). NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus. *Neuron*, 21(5), 1151–1162. DOI:10.1016/S0896-6273(00)80632-7
275. Lee K., Holley S. M., Shobe J. L., Chong N. C., Cepeda C., Levine M. S. i Masmanidis S. C. (2017). Parvalbumin interneurons modulate striatal output and enhance performance during associative learning. *Neuron*, 93(6), 1451-1463.e4. DOI:10.1016/j.neuron.2017.02.033
276. Lee L., Chen W., Chuang Y. i Wang Y. (2009). Neonatal whisker trimming causes long-lasting changes in structure and function of the somatosensory system. *Experimental Neurology*, 219(2), 524–532. DOI:10.1016/j.expneurol.2009.07.012
277. Lee S., Hjerling-Leffler J., Zaghera E., Fishell G. i Rudy B. (2010). The largest group of superficial neocortical GABAergic interneurons expresses ionotropic serotonin receptors. *Journal of Neuroscience*, 30(50), 16796–16808. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1869-10.2010
278. Lee S., Kruglikov I., Huang Z. J., Fishell G. i Rudy B. (2013). A disinhibitory circuit mediates motor integration in the somatosensory cortex. *Nature Publishing Group*, 16(11), 1662–1670. DOI:10.1038/nn.3544
279. Lee S. i Kwag J. (2012). M-channels modulate the intrinsic excitability and synaptic responses of layer 2/3 pyramidal neurons in auditory cortex. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 426(4), 448–453. DOI:10.1016/j.bbrc.2012.08.057
280. Lefort S., Tómm C., Floyd Sarria J.-C. i Petersen C. C. H. (2009). The excitatory neuronal network of the C2 barrel column in mouse primary somatosensory cortex. *Neuron*, 61(2), 301–316. DOI:10.1016/j.neuron.2008.12.020

281. Lemak M. S., Voloshanenko O., Draguhn A. i Egorov A. V. (2014). KATP channels modulate intrinsic firing activity of immature entorhinal cortex layer III neurons. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 8(August), 255. DOI:10.3389/fncel.2014.00255
282. Letzkus J. J., Wolff S. B. E., Meyer E. M. M., Tovote P., Courtin J., Herry C. i Lüthi A. (2011). A disinhibitory microcircuit for associative fear learning in the auditory cortex. *Nature*, 480(7377), 331–335. DOI:10.1038/nature10674
283. Levitan D., Liu C., Yang T., Shima Y., Lin J. Y., Wachutka J., Marrero Y., Ghoddousi R. A. M., Beltrame E. da V., Richter T. A., Katz D. B. i Nelson S. B. (2020). Deletion of *Stk11* and *Fos* in mouse BLA projection neurons alters intrinsic excitability and impairs formation of long-term aversive memory. *eLife*, 9, e61036. DOI:10.7554/ELIFE.61036
284. Li J., Park E., Zhong L. R. i Chen L. (2019). Homeostatic synaptic plasticity as a metaplasticity mechanism — a molecular and cellular perspective. *Current Opinion in Neurobiology*, 54, 44–53. DOI:10.1016/j.conb.2018.08.010
285. Li Q., Ko H., Qian Z.-M., Yan L. Y. C., Chan D. C. W., Arbuthnott G., Ke Y. i Yung W.-H. (2017). Refinement of learned skilled movement representation in motor cortex deep output layer. *Nature Communications*, 8, 15834. DOI:10.1038/ncomms15834
286. Li R., Zhang W., Zhang J., Zhang H., Chen H., Hu Z., Yao Z., Chen H. i Hu B. (2022). Sustained activity of hippocampal parvalbumin-expressing interneurons supports trace eyeblink conditioning in mice. *The Journal of Neuroscience*, 42(44), 8343–8360. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0834-22.2022
287. Liguz-Leczna M., Lehner M., Kaliszewska A., Zakrzewska R., Sobolewska A. i Kossut M. (2015). Altered glutamate/GABA equilibrium in aged mice cortex influences cortical plasticity. *Brain Structure and Function*, 220(3), 1681–1693. DOI:10.1007/s00429-014-0752-6
288. Liguz-Leczna M., Urban-Ciecko J. i Kossut M. (2016). Somatostatin and somatostatin-containing neurons in shaping neuronal activity and plasticity. *Frontiers in Neural Circuits*, 10(June), 48. DOI:10.3389/fncir.2016.00048
289. Lim L., Mi D., Llorca A. i Marín O. (2018). Development and functional diversification of cortical interneurons. *Neuron*, 100(2), 294–313. DOI:10.1016/j.neuron.2018.10.009
290. Lipina T. V., Prasad T., Yokomaku D., Luo L., Connor S. A., Kawabe H., Wang Y. T., Brose N., Roder J. C. i Craig A. M. (2016). Cognitive deficits in calyntenin-2-deficient mice associated with reduced GABAergic transmission. *Neuropsychopharmacology*, 41(3), 802–810. DOI:10.1038/npp.2015.206
291. Lisman J. (1989). A mechanism for the Hebb and the anti-Hebb processes underlying learning and memory. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 86(23), 9574–9578. DOI:10.1073/pnas.86.23.9574

292. Lisman J., Schulman H. i Cline H. (2002). The molecular basis of CaMKII function in synaptic and behavioural memory. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(3), 175–190. DOI:10.1038/nrn753
293. Lissin D. V., Gomperts S. N., Carroll R. C., Christine C. W., Kalman D., Kitamura M., Hardy S., Nicoll R. A., Malenka R. C. i von Zastrow M. (1998). Activity differentially regulates the surface expression of synaptic AMPA and NMDA glutamate receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(12), 7097–7102. DOI:10.1073/pnas.95.12.7097
294. Litwin-Kumar A. i Doiron B. (2014). Formation and maintenance of neuronal assemblies through synaptic plasticity. *Nature Communications*, 5, 5319. DOI:10.1038/ncomms6319
295. Łomnicki A. (2014). *Wprowadzenie do statystyki dla przyrodników*. Warszawa: Wydawnictwo Naukowe PWN. ISBN: 9788301179489
296. Lorén I., Emson P. C., Fahrenkrug J., Björklund A., Alumets J., Håkanson R. i Sundler F. (1979). Distribution of vasoactive intestinal polypeptide in the rat and mouse brain. *Neuroscience*, 4(12), 1953–1976. DOI:10.1016/0306-4522(79)90068-X
297. Losonczy A., Makara J. K. i Magee J. C. (2008). Compartmentalized dendritic plasticity and input feature storage in neurons. *Nature*, 452(7186), 436–441. DOI:10.1038/nature06725
298. Lu B., Su Y., Das S., Liu J., Xia J. i Ren D. (2007). The neuronal channel NALCN contributes resting sodium permeability and is required for normal respiratory rhythm. *Cell*, 129(2), 371–383. DOI:10.1016/j.cell.2007.02.041
299. Lu J. -t., Li C. -y., Zhao J.-P., Poo M. -m. i Zhang X. -h. (2007). Spike-timing-dependent plasticity of neocortical excitatory synapses on inhibitory interneurons depends on target cell type. *Journal of Neuroscience*, 27(36), 9711–9720. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2513-07.2007
300. Lupien-Meilleur A., Jiang X., Lachance M., Taschereau-Dumouchel V., Gagnon L., Vanasse C., Lacaille J.-C. i Rossignol E. (2021). Reversing frontal disinhibition rescues behavioural deficits in models of CACNA1A-associated neurodevelopment disorders. *Molecular Psychiatry*, 26(12), 7225–7246. DOI:10.1038/s41380-021-01175-1
301. Luscher C. i Malenka R. C. (2012). NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(6), a005710. DOI:10.1101/cshperspect.a005710
302. Lynch G. S., Dunwiddie T. i Gribkoff V. (1977). Heterosynaptic depression: a postsynaptic correlate of long-term potentiation. *Nature*, 266(5604), 737–739. DOI:10.1038/266737a0

303. Ma P. M. (1991). The barrelettes-architectonic vibrissal representations in the brainstem trigeminal complex of the mouse. I. Normal structural organization. *The Journal of Comparative Neurology*, 309(2), 161–199. DOI:10.1002/cne.903090202
304. Ma P. M. i Woolsey T. A. (1984). Cytoarchitectonic correlates of the vibrissae in the medullary trigeminal complex of the mouse. *Brain Research*, 306(1–2), 374–379. DOI:10.1016/0006-8993(84)90390-1
305. Ma Y., Hu H. i Agmon A. (2012). Short-term plasticity of unitary inhibitory-to-inhibitory synapses depends on the presynaptic interneuron subtype. *Journal of Neuroscience*, 32(3), 983–988. DOI:10.1523/JNEUROSCI.5007-11.2012
306. Ma Y., Hu H., Berrebi A. S., Mathers P. H. i Agmon A. (2006). Distinct subtypes of somatostatin-containing neocortical interneurons revealed in transgenic mice. *The Journal of Neuroscience*, 26(19), 5069–5082. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0661-06.2006
307. Maffei A., Nelson S. B. i Turrigiano G. G. (2004). Selective reconfiguration of layer 4 visual cortical circuitry by visual deprivation. *Nature Neuroscience*, 7(12), 1353–1359. DOI:10.1038/nm1351
308. Maffei A. i Turrigiano G. G. (2008). Multiple modes of network homeostasis in visual cortical layer 2/3. *Journal of Neuroscience*, 28(17), 4377–4384. DOI:10.1523/JNEUROSCI.5298-07.2008
309. Magee J. C. (1999). Dendritic Ih normalizes temporal summation in hippocampal CA1 neurons. *Nature Neuroscience*, 2(6), 508–514. DOI:10.1038/9158
310. Mahon S. i Charpier S. (2012). Bidirectional plasticity of intrinsic excitability controls sensory inputs efficiency in layer 5 barrel cortex neurons in vivo. *Journal of Neuroscience*, 32(33), 11377–11389. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0415-12.2012
311. Malik R. i Chattarji S. (2012). Enhanced intrinsic excitability and EPSP-spike coupling accompany enriched environment-induced facilitation of LTP in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of Neurophysiology*, 107(5), 1366–1378. DOI:10.1152/jn.01009.2011
312. Malinow R. i Tsien R. W. (1990). Presynaptic enhancement shown by whole-cell recordings of long-term potentiation in hippocampal slices. *Nature*, 346(6280), 177–180. DOI:10.1038/346177a0
313. Markram H., Lübke J., Frotscher M. i Sakmann B. (1997). Regulation of synaptic efficacy by coincidence of postsynaptic APs and EPSPs. *Science*, 275(5297), 213–215. DOI:10.1126/science.275.5297.213
314. Markram H., Toledo-Rodriguez M., Wang Y., Gupta A., Silberberg G. i Wu C. (2004). Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature Reviews Neuroscience*, 5(10), 793–807. DOI:10.1038/nrn1519
315. Martinotti C. (1889). Contributo allo studio della corteccia cerebrale, ed all'origine centrale dei nervi. *Ann. Freniatr. Sci.*, 1, 14–381.

316. Masri R., Bezdudnaya T., Trageser J. C. i Keller A. (2008). Encoding of stimulus frequency and sensor motion in the posterior medial thalamic nucleus. *Journal of Neurophysiology*, *100*(2), 681–689. DOI:10.1152/jn.01322.2007
317. Matsuzaki M., Honkura N., Ellis-Davies G. C. R. i Kasai H. (2004). Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. *Nature*, *429*(6993), 761–766. DOI:10.1038/nature02617
318. Mayer M. L., Westbrook G. L. i Guthrie P. B. (1984). Voltage-dependent block by Mg²⁺ of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature*, *309*(5965), 261–263. DOI:10.1038/309261a0
319. Mazarakis N. K., Cybulska-Klosowicz A., Grote H., Pang T., Van Dellen A., Kossut M., Blakemore C. i Hannan A. J. (2005). Deficits in experience-dependent cortical plasticity and sensory-discrimination learning in presymptomatic Huntington’s disease mice. *Journal of Neuroscience*, *25*(12), 3059–3066. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4320-04.2005
320. McKay B. M., Oh M. M. i Disterhoft J. F. (2013). Learning increases intrinsic excitability of hippocampal interneurons. *Journal of Neuroscience*, *33*(13), 5499–5506. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4068-12.2013
321. McKinney R. A., Capogna M., Dürr R., Gähwiler B. H. i Thompson S. M. (1999). Miniature synaptic events maintain dendritic spines via AMPA receptor activation. *Nature Neuroscience*, *2*(1), 44–49. DOI:10.1038/4548
322. Meis S., Munsch T., Sosulina L. i Pape H. C. (2007). Postsynaptic mechanisms underlying responsiveness of amygdaloid neurons to cholecystokinin are mediated by a transient receptor potential-like current. *Molecular and Cellular Neuroscience*, *35*(2), 356–367. DOI:10.1016/j.mcn.2007.03.012
323. Meldrum B. S. (2000). Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. *The Journal of Nutrition*, *130*(4), 1007S-1015S. DOI:10.1093/jn/130.4.1007S
324. Mellentin C., Jahnsen H. i Abraham W. C. (2007). Priming of long-term potentiation mediated by ryanodine receptor activation in rat hippocampal slices. *Neuropharmacology*, *52*(1), 118–125. DOI:10.1016/j.neuropharm.2006.07.009
325. Melzer S., Newmark E. R., Mizuno G. O., Hyun M., Philson A. C., Quiroli E., Righetti B., Gregory M. R., Huang K. W., Levasseur J., Tian L. i Sabatini B. L. (2021). Bombesin-like peptide recruits disinhibitory cortical circuits and enhances fear memories. *Cell*, *184*(22), 5622-5634.e25. DOI:10.1016/j.cell.2021.09.013
326. Meuth S. G., Kanyshkova T., Meuth P., Landgraf P., Munsch T., Ludwig A., Hofmann F., Pape H. i Budde T. (2006). Membrane resting potential of thalamocortical relay neurons is shaped by the interaction among TASK3 and HCN2 channels. *Journal of Neurophysiology*, *96*(3), 1517–1529. DOI:10.1152/jn.01212.2005

327. Meyer H. S., Schwarz D., Wimmer V. C., Schmitt A. C., Kerr J. N. D., Sakmann B. i Helmstaedter M. (2011). Inhibitory interneurons in a cortical column form hot zones of inhibition in layers 2 and 5A. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(40), 16807–16812. DOI:10.1073/pnas.1113648108
328. Micheva K. D. i Beaulieu C. (1996). Quantitative aspects of synaptogenesis in the rat barrel field cortex with special reference to GABA circuitry. *The Journal of Comparative Neurology*, 373(3), 340–354. DOI:10.1002/(SICI)1096-9861(19960923)373:3<340::AID-CNE3>3.0.CO;2-2
329. Mix A., Benali A., Eysel U. T. i Funke K. (2010). Continuous and intermittent transcranial magnetic theta burst stimulation modify tactile learning performance and cortical protein expression in the rat differently. *European Journal of Neuroscience*, 32(9), 1575–1586. DOI:10.1111/j.1460-9568.2010.07425.x
330. Moldavan M., Cravetchi O. i Allen C. N. (2021). Diurnal properties of tonic and synaptic GABAA receptor-mediated currents in suprachiasmatic nucleus neurons. *Journal of Neurophysiology*, 126(2), 637–652. DOI:10.1152/jn.00556.2020
331. Molecular Devices LLC. (2012). Data Analysis. W: *The Axon Guide Electrophysiology and Biophysics Laboratory Techniques* (3. wyd., s. 239–258). Sunnyvale: Wydawnictwo Molecular Devices, LLC.
332. Molecular Devices LLC. (2020). *How various Event Statistics frequency stats are calculated*. <https://support.moleculardevices.com/s/article/How-various-Event-Statistics-frequency-stats-are-calculated> (dostęp 04.04.2023 r.)
333. Monaco S. A., Matamoros A. J. i Gao W.-J. (2020). Conditional GSK3 β deletion in parvalbumin-expressing interneurons potentiates excitatory synaptic function and learning in adult mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 100, 109901. DOI:10.1016/j.pnpbp.2020.109901
334. Moore J. D., Mercer Lindsay N., Deschênes M. i Kleinfeld D. (2015). Vibrissa self-motion and touch are reliably encoded along the same somatosensory pathway from brainstem through thalamus. *PLoS Biology*, 13(9), e1002253. DOI:10.1371/journal.pbio.1002253
335. Morales C., Morici J. F., Espinosa N., Sacson A., Lara-Vasquez A., García-Pérez M. A., Bekinschtein P., Weisstaub N. V. i Fuentealba P. (2021). Dentate gyrus somatostatin cells are required for contextual discrimination during episodic memory encoding. *Cerebral Cortex*, 31(2), 1046–1059. DOI:10.1093/cercor/bhaa273
336. Motanis H., Maroun M. i Barkai E. (2014). Learning-induced bidirectional plasticity of intrinsic neuronal excitability reflects the valence of the outcome. *Cerebral Cortex*, 24(4), 1075–1087. DOI:10.1093/cercor/bhs394

337. Moussawi K., Pacchioni A., Moran M., Olive M. F., Gass J. T., Lavin A. i Kalivas P. W. (2009). N-Acetylcysteine reverses cocaine-induced metaplasticity. *Nature Neuroscience*, *12*(2), 182–189. DOI:10.1038/nn.2250
338. Muchhala K. H., Koseli E., Gade A. R., Woods K., Minai S., Kang M., McQuiston A. R., Dewey W. L. i Akbarali H. I. (2022). Chronic morphine induces IL-18 in ileum myenteric plexus neurons through mu-opioid receptor activation in cholinergic and VIPergic neurons. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, *17*(1–2), 111–130. DOI:10.1007/s11481-021-10050-3
339. Mulkey R. M., Endo S., Shenolikar S. i Malenka R. C. (1994). Involvement of a calcineurin/inhibitor-1 phosphatase cascade in hippocampal long-term depression. *Nature*, *369*(6480), 486–488. DOI:10.1038/369486a0
340. Mulkey R. M., Herron C. E. i Malenka R. C. (1993). An essential role for protein phosphatases in hippocampal long-term depression. *Science*, *261*(5124), 1051–1055. DOI:10.1126/science.8394601
341. Muller M., Liu K. S. Y., Sigrist S. J. i Davis G. W. (2012). RIM controls homeostatic plasticity through modulation of the readily-releasable vesicle pool. *Journal of Neuroscience*, *32*(47), 16574–16585. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0981-12.2012
342. Nabavi S., Fox R., Proulx C. D., Lin J. Y., Tsien R. Y. i Malinow R. (2014). Engineering a memory with LTD and LTP. *Nature*, *511*(7509), 348–352. DOI:10.1038/nature13294
343. Nabavi S., Kessels H. W., Alfonso S., Aow J., Fox R. i Malinow R. (2013). Metabotropic NMDA receptor function is required for NMDA receptor-dependent long-term depression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *110*(10), 4027–4032. DOI:10.1073/pnas.1219454110
344. Nägerl U. V., Eberhorn N., Cambridge S. B. i Bonhoeffer T. (2004). Bidirectional activity-dependent morphological plasticity in hippocampal neurons. *Neuron*, *44*(5), 759–767. DOI:10.1016/j.neuron.2004.11.016
345. Naka A., Veit J., Shababo B., Chance R. K., Risso D., Stafford D., Snyder B., Egladyous A., Chu D., Sridharan S., Mossing D. P., Paninski L., Ngai J. i Adesnik H. (2019). Complementary networks of cortical somatostatin interneurons enforce layer specific control. *eLife*, *8*, e43696. DOI:10.7554/eLife.43696.
346. Natan R. G., Briguglio J. J., Mwilambwe-Tshilobo L., Jones S. I., Aizenberg M., Goldberg E. M. i Geffen M. N. (2015). Complementary control of sensory adaptation by two types of cortical interneurons. *eLife*, *4*, e09868. DOI:10.7554/eLife.09868
347. Nigro M. J., Hashikawa-Yamasaki Y. i Rudy B. (2018). Diversity and connectivity of layer 5 somatostatin-expressing interneurons in the mouse barrel cortex. *The Journal of Neuroscience*, *38*(7), 1622–1633. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2415-17.2017

348. Nigro M. J., Kirikae H., Kjelsberg K., Nair R. R. i Witter M. P. (2021). Not all that is gold glitters: PV-IRES-Cre mouse line shows low efficiency of labeling of parvalbumin interneurons in the perirhinal cortex. *Frontiers in Neural Circuits*, 15(November), 781928. DOI:10.3389/fncir.2021.781928
349. Nowak L., Bregestovski P., Ascher P., Herbert A. i Prochiantz A. (1984). Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature*, 307(5950), 462–465. DOI:10.1038/307462a0
350. Ntim M., Li Q.-F., Zhang Y., Liu X.-D., Li N., Sun H.-L., Zhang X., Khan B., Wang B., Wu Q., Wu X.-F., Walana W., Khan K., Ma Q.-H., Zhao J. i Li S. (2020). TRIM32 deficiency impairs synaptic plasticity by excitatory-inhibitory imbalance via notch pathway. *Cerebral Cortex*, 30(8), 4617–4632. DOI:10.1093/cercor/bhaa064
351. O'Brien R. J., Kamboj S., Ehlers M. D., Rosen K. R., Fischbach G. D. i Huganir R. L. (1998). Activity-dependent modulation of synaptic AMPA receptor accumulation. *Neuron*, 21(5), 1067–1078. DOI:10.1016/S0896-6273(00)80624-8
352. O'Connor D. H., Peron S. P., Huber D. i Svoboda K. (2010). Neural activity in barrel cortex underlying vibrissa-based object localization in mice. *Neuron*, 67(6), 1048–1061. DOI:10.1016/j.neuron.2010.08.026
353. Oberlaender M., de Kock C. P. J., Bruno R. M., Ramirez A., Meyer H. S., Dercksen V. J., Helmstaedter M. i Sakmann B. (2012). Cell type-specific three-dimensional structure of thalamocortical circuits in a column of rat vibrissal cortex. *Cerebral Cortex*, 22(10), 2375–2391. DOI:10.1093/cercor/bhr317
354. Ognjanovski N., Broussard C., Zochowski M. i Aton S. J. (2018). Hippocampal network oscillations rescue memory consolidation deficits caused by sleep loss. *Cerebral Cortex*, 28(10), 3711–3723. DOI:10.1093/cercor/bhy174
355. Ognjanovski N., Schaeffer S., Wu J., Mofakham S., Maruyama D., Zochowski M. i Aton S. J. (2017). Parvalbumin-expressing interneurons coordinate hippocampal network dynamics required for memory consolidation. *Nature Communications*, 8, 15039. DOI:10.1038/ncomms15039
356. Ohno S., Kuramoto E., Furuta T., Hioki H., Tanaka Y. R., Fujiyama F., Sonomura T., Uemura M., Sugiyama K. i Kaneko T. (2012). A morphological analysis of thalamocortical axon fibers of rat posterior thalamic nuclei: a single neuron tracing study with viral vectors. *Cerebral Cortex*, 22(12), 2840–2857. DOI:10.1093/cercor/bhr356
357. Ohtsuki G., Piochon C., Adelman J. P. i Hansel C. (2012). SK2 channel modulation contributes to compartment-specific dendritic plasticity in cerebellar Purkinje cells. *Neuron*, 75(1), 108–120. DOI:10.1016/j.neuron.2012.05.025

358. Olah V. J., Goettmoeller A. M., Rayaprolu S., Dammer E. B., Seyfried N. T., Rangaraju S., Dimidschstein J. i Rowan M. J. (2022). Biophysical Kv3 channel alterations dampen excitability of cortical PV interneurons and contribute to network hyperexcitability in early Alzheimer's. *eLife*, *11*, e75316. DOI:10.7554/eLife.75316
359. Oliva A. A., Jiang M., Lam T., Smith K. L. i Swann J. W. (2000). Novel hippocampal interneuronal subtypes identified using transgenic mice that express green fluorescent protein in GABAergic interneurons. *The Journal of Neuroscience*, *20*(9), 3354–3368. DOI:10.1523/JNEUROSCI.20-09-03354.2000
360. Ovsepián S. V. i Friel D. D. (2008). The leaner P/Q-type calcium channel mutation renders cerebellar Purkinje neurons hyper-excitable and eliminates Ca²⁺-Na⁺ spike bursts. *European Journal of Neuroscience*, *27*(1), 93–103. DOI:10.1111/j.1460-9568.2007.05998.x
361. Page C. E. i Coutellier L. (2019). Prefrontal excitatory/inhibitory balance in stress and emotional disorders: evidence for over-inhibition. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *105*(October), 39–51. DOI:10.1016/j.neubiorev.2019.07.024
362. Palacio S., Chevaléyre V., Brann D. H., Murray K. D., Piskorowski R. A. i Trimmer J. S. (2017). Heterogeneity in Kv2 channel expression shapes action potential characteristics and firing patterns in CA1 versus CA2 hippocampal pyramidal neurons. *eNeuro*, *4*(4), ENEURO.0267-17.2017. DOI:10.1523/ENEURO.0267-17.2017
363. Pan J.-T., Li C.-S., Ka-Choi T. i Jing-Ying L. (1992). Low calcium/high magnesium medium increases activities of hypothalamic arcuate and suprachiasmatic neurons in brain tissue slices. *Neuroscience Letters*, *144*(1–2), 157–160. DOI:10.1016/0304-3940(92)90739-T
364. Pang R. i Fairhall A. L. (2019). Fast and flexible sequence induction in spiking neural networks via rapid excitability changes. *eLife*, *8*, e44324. DOI:10.7554/eLife.44324
365. Paoletti P. i Neyton J. (2007). NMDA receptor subunits: function and pharmacology. *Current Opinion in Pharmacology*, *7*(1), 39–47. DOI:10.1016/j.coph.2006.08.011
366. Park J.-Y., Remy S., Varela J., Cooper D. C., Chung S., Kang H.-W., Lee J.-H. i Spruston N. (2010). A post-burst afterdepolarization is mediated by group I metabotropic glutamate receptor-dependent upregulation of Cav2.3 R-type calcium channels in CA1 pyramidal neurons. *PLoS Biology*, *8*(11), e1000534. DOI:10.1371/journal.pbio.1000534
367. Park T. J., Comer C., Carol A., Lu Y., Hong H.-S. i Rice F. L. (2003). Somatosensory organization and behavior in naked mole-rats: II. Peripheral structures, innervation, and selective lack of neuropeptides associated with thermoregulation and pain. *The Journal of Comparative Neurology*, *465*(1), 104–120. DOI:10.1002/cne.10824
368. Patel Y. C. (1999). Somatostatin and its receptor family. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *20*(3), 157–198. DOI:10.1006/frne.1999.0183

369. Paulus W. i Rothwell J. C. (2016). Membrane resistance and shunting inhibition: where biophysics meets state-dependent human neurophysiology. *The Journal of Physiology*, 594(10), 2719–2728. DOI:10.1113/JP271452
370. Paz J. T., Christian C. A., Parada I., Prince D. A. i Huguenard J. R. (2010). Focal cortical infarcts alter intrinsic excitability and synaptic excitation in the reticular thalamic nucleus. *Journal of Neuroscience*, 30(15), 5465–5479. DOI:10.1523/JNEUROSCI.5083-09.2010
371. Penn A. C., Zhang C. L., Georges F., Royer L., Breillat C., Hosy E., Petersen J. D., Humeau Y. i Choquet D. (2017). Hippocampal LTP and contextual learning require surface diffusion of AMPA receptors. *Nature*, 549(7672), 384–388. DOI:10.1038/nature23658
372. Permyakov E. A. i Uversky V. N. (2022). What is parvalbumin for? *Biomolecules*, 12(5), 656. DOI:10.3390/biom12050656
373. Pesold C., Liu W. S., Guidotti A., Costa E. i Caruncho H. J. (1999). Cortical bitufted, horizontal, and Martinotti cells preferentially express and secrete reelin into perineuronal nets, nonsynaptically modulating gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(6), 3217–3222. DOI:10.1073/pnas.96.6.3217
374. Peters A. i Harriman K. M. (1988). Enigmatic bipolar cell of rat visual cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 267(3), 409–432. DOI:10.1002/cne.902670310
375. Petersen C. C. H. (2007). The functional organization of the barrel cortex. *Neuron*, 56(2), 339–355. DOI:10.1016/j.neuron.2007.09.017
376. Petersen R. S., Panzeri S. i Diamond M. E. (2002). The role of individual spikes and spike patterns in population coding of stimulus location in rat somatosensory cortex. *Biosystems*, 67(1–3), 187–193. DOI:10.1016/S0303-2647(02)00076-X
377. Pfeffer C. K., Xue M., He M., Huang Z. J. i Scanziani M. (2013). Inhibition of inhibition in visual cortex: the logic of connections between molecularly distinct interneurons. *Nature Neuroscience*, 16(8), 1068–1076. DOI:10.1038/nn.3446
378. Pi H.-J., Hangya B., Kvitsiani D., Sanders J. I., Huang Z. J. i Kepecs A. (2013). Cortical interneurons that specialize in disinhibitory control. *Nature*, 503(7477), 521–524. DOI:10.1038/nature12676
379. Posłuszny A. (2019). Updating the picture of layer 2/3 VIP-expressing interneuron function in the mouse cerebral cortex. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 79(4), 328–337. PMID: 31885390
380. Posłuszny A., Liguz-Leczna M., Turzynska D., Zakrzewska R., Bielecki M. i Kossut M. (2015). Learning-dependent plasticity of the barrel cortex is impaired by restricting GABA-ergic transmission. *PLoS ONE*, 10(12), e0144415. DOI:10.1371/journal.pone.0144415

381. Pothmann L., Klos C., Braganza O., Schmidt S., Horno O., Memmesheimer R. i Beck H. (2019). Altered dynamics of canonical feedback inhibition predicts increased burst transmission in chronic epilepsy. *The Journal of Neuroscience*, 39(45), 8998–9012. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2594-18.2019
382. Pouille F., Marin-Burgin A., Adesnik H., Atallah B. V. i Scanziani M. (2009). Input normalization by global feedforward inhibition expands cortical dynamic range. *Nature Neuroscience*, 12(12), 1577–1585. DOI:10.1038/nn.2441
383. Povysheva N. V., Zaitsev A. V., Gonzalez-Burgos G. i Lewis D. A. (2013). Electrophysiological heterogeneity of fast-spiking interneurons: chandelier versus basket cells. *PLoS ONE*, 8(8), e70553. DOI:10.1371/journal.pone.0070553
384. Prönneke A., Scheuer B., Wagener R. J., Möck M., Witte M. i Staiger J. F. (2015). Characterizing VIP neurons in the barrel cortex of VIPcre/tdTomato mice reveals layer-specific differences. *Cerebral Cortex*, 25(12), 4854–4868. DOI:10.1093/cercor/bhv202
385. Prönneke A., Witte M., Möck M. i Staiger J. F. (2020). Neuromodulation leads to a burst-tonic switch in a subset of VIP neurons in mouse primary somatosensory (barrel) cortex. *Cerebral Cortex*, 30(2), 488–504. DOI:10.1093/cercor/bhz102
386. Quist B. W. i Hartmann M. J. Z. (2012). Mechanical signals at the base of a rat vibrissa: the effect of intrinsic vibrissa curvature and implications for tactile exploration. *Journal of Neurophysiology*, 107(9), 2298–2312. DOI:10.1152/jn.00372.2011
387. Rama S., Zbili M., Fékété A., Tapia M., Benitez M. J., Boumedine N., Garrido J. J. i Debanne D. (2017). The role of axonal Kv1 channels in CA3 pyramidal cell excitability. *Scientific Reports*, 7(1), 315. DOI:10.1038/s41598-017-00388-1
388. Ramos-Prats A., Paradiso E., Castaldi F., Sadeghi M., Mir M. Y., Hörtnagl H., Göbel G. i Ferraguti F. (2022). VIP-expressing interneurons in the anterior insular cortex contribute to sensory processing to regulate adaptive behavior. *Cell Reports*, 39(9), 110893. DOI:10.1016/j.celrep.2022.110893
389. Rau A. R., Chappell A. M., Butler T. R., Ariwodola O. J. i Weiner J. L. (2015). Increased basolateral amygdala pyramidal cell excitability may contribute to the anxiogenic phenotype induced by chronic early-life stress. *Journal of Neuroscience*, 35(26), 9730–9740. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0384-15.2015
390. Raymond C. R., Thompson V. L., Tate W. P. i Abraham W. C. (2000). Metabotropic glutamate receptors trigger homosynaptic protein synthesis to prolong long-term potentiation. *The Journal of Neuroscience*, 20(3), 969–976. DOI:10.1523/JNEUROSCI.20-03-00969.2000
391. Ren C., Peng K., Yang R., Liu W., Liu C. i Komiyama T. (2022). Global and subtype-specific modulation of cortical inhibitory neurons regulated by acetylcholine during motor learning. *Neuron*, 110(14), 2334-2350.e8. DOI:10.1016/j.neuron.2022.04.031

392. Ren D. (2011). Sodium leak channels in neuronal excitability and rhythmic behaviors. *Neuron*, 72(6), 899–911. DOI:10.1016/j.neuron.2011.12.007
393. Reuveni I. i Barkai E. (2018). Tune it in: mechanisms and computational significance of neuron-autonomous plasticity. *Journal of Neurophysiology*, 120(4), 1781–1795. DOI:10.1152/jn.00102.2018
394. Reyes A., Lujan R., Rozov A., Burnashev N., Somogyi P. i Sakmann B. (1998). Target-cell-specific facilitation and depression in neocortical circuits. *Nature Neuroscience*, 1(4), 279–284. DOI:10.1038/1092
395. Ribeiro E. A., Salery M., Scarpa J. R., Calipari E. S., Hamilton P. J., Ku S. M., Kronman H., Purushothaman I., Juarez B., Heshmati M., Doyle M., Lardner C., Burek D., Strat A., Pirpinias S., Mouzon E., Han M.-H., ... Nestler E. J. (2018). Transcriptional and physiological adaptations in nucleus accumbens somatostatin interneurons that regulate behavioral responses to cocaine. *Nature Communications*, 9, 3149. DOI:10.1038/s41467-018-05657-9
396. Rice F. L., Mance A. i Munger B. L. (1986). A comparative light microscopic analysis of the sensory innervation of the mystacial pad. I. Innervation of vibrissal follicle-sinus complexes. *The Journal of Comparative Neurology*, 252(2), 154–174. DOI:10.1002/cne.902520203
397. Risner M. L., McGrady N. R., Boal A. M., Pasini S. i Calkins D. J. (2021). TRPV1 supports axogenic enhanced excitability in response to neurodegenerative stress. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14(January), 603419. DOI:10.3389/fncel.2020.603419
398. Rivas-Ramírez P., Reboreda A., Rueda-Ruzafa L., Herrera-Pérez S. i Lamas J. A. (2020). Contribution of KCNQ and TREK channels to the resting membrane potential in sympathetic neurons at physiological temperature. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(16), 5796. DOI:10.3390/ijms21165796
399. Rodriguez-Molina V. M., Aertsen A. i Heck D. H. (2007). Spike timing and reliability in cortical pyramidal neurons: effects of EPSC kinetics, input synchronization and background noise on spike timing. *PLoS ONE*, 2(3), e319. DOI:10.1371/journal.pone.0000319
400. Rogan M. T., Stäubli U. V. i LeDoux J. E. (1997). Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala. *Nature*, 390(6660), 604–607. DOI:10.1038/37601
401. Rogers J. H. (1992). Immunohistochemical markers in rat cortex: co-localization of calretinin and calbindin-D28k with neuropeptides and GABA. *Brain Research*, 587(1), 147–157. DOI:10.1016/0006-8993(92)91439-L
402. Rudy B., Chow A., Lau D., Amarillo Y., Ozaita A., Saganich M., Moreno H., Nadal M. S., Hernandez-Pineda R., Hernandez-Cruz A., Erisir A., Leonard C. i Vega-Saenz De Miera E. (1999). Contributions of Kv3 channels to neuronal excitability. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 868(1), 304–343. DOI:10.1111/j.1749-6632.1999.tb11295.x

403. Rudy B., Fishell G., Lee S. i Hjerling-Leffler J. (2011). Three groups of interneurons account for nearly 100% of neocortical GABAergic neurons. *Developmental Neurobiology*, 71(1), 45–61. DOI:10.1002/dneu.20853
404. Runyan C. A., Schummers J., Van Wart A., Kuhlman S. J., Wilson N. R., Huang Z. J. i Sur M. (2010). Response features of parvalbumin-expressing interneurons suggest precise roles for subtypes of inhibition in visual cortex. *Neuron*, 67(5), 847–857. DOI:10.1016/j.neuron.2010.08.006
405. Rupert D. D. i Shea S. D. (2022). Parvalbumin-positive interneurons regulate cortical sensory plasticity in adulthood and development through shared mechanisms. *Frontiers in Neural Circuits*, 16(May), 886629. DOI:10.3389/fncir.2022.886629
406. Rush A. M., Wu J., Rowan M. J. i Anwyl R. (2002). Group I metabotropic glutamate receptor (mGluR)-dependent long-term depression mediated via p38 mitogen-activated protein kinase is inhibited by previous high-frequency stimulation and activation of mGluRs and protein kinase C in the rat dentate gyrus *in vitro*. *The Journal of Neuroscience*, 22(14), 6121–6128. DOI:10.1523/JNEUROSCI.22-14-06121.2002
407. Sachidhanandam S., Sreenivasan V., Kyriakatos A., Kremer Y. i Petersen C. C. H. (2013). Membrane potential correlates of sensory perception in mouse barrel cortex. *Nature Neuroscience*, 16(11), 1671–1677. DOI:10.1038/nn.3532
408. Said S. I. (1986). Vasoactive intestinal peptide. *Journal of Endocrinological Investigation*, 9(2), 191–200. DOI:10.1007/BF03348097
409. Said S. I. i Mutt V. (1970). Polypeptide with broad biological activity: isolation from small intestine. *Science*, 169(3951), 1217–1218. DOI:10.1126/science.169.3951.1217
410. Salling M. C., Skelly M. J., Avegno E., Regan S., Zeric T., Nichols E. i Harrison N. L. (2018). Alcohol consumption during adolescence in a mouse model of binge drinking alters the intrinsic excitability and function of the prefrontal cortex through a reduction in the hyperpolarization-activated cation current. *The Journal of Neuroscience*, 38(27), 6207–6222. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0550-18.2018
411. Sammari M., Inglebert Y., Ankri N., Russier M., Incontro S. i Debanne D. (2022). Theta patterns of stimulation induce synaptic and intrinsic potentiation in O-LM interneurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(44), e2205264119. DOI:10.1073/pnas.2205264119
412. Sánchez-Aguilera A., Monedero G., Colino A. i Vicente-Torres M. Á. (2020). Development of action potential waveform in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Neuroscience*, 442, 151–167. DOI:10.1016/j.neuroscience.2020.06.042

413. Scala F., Kobak D., Shan S., Bernaerts Y., Laturus S., Cadwell C. R., Hartmanis L., Froudarakis E., Castro J. R., Tan Z. H., Papadopoulos S., Patel S. S., Sandberg R., Berens P., Jiang X. i Tolias A. S. (2019). Layer 4 of mouse neocortex differs in cell types and circuit organization between sensory areas. *Nature Communications*, *10*, 4174. DOI:10.1038/s41467-019-12058-z
414. Scheyltjens I. i Arckens L. (2016). The current status of somatostatin-interneurons in inhibitory control of brain function and plasticity. *Neural Plasticity*, *2016*, 8723623. DOI:10.1155/2016/8723623
415. Scholfield C. N. (1978). Electrical properties of neurones in the olfactory cortex slice *in vitro*. *The Journal of Physiology*, *275*(1), 535–546. DOI:10.1113/jphysiol.1978.sp012206
416. Schuman B., Machold R. P., Hashikawa Y., Fuzik J., Fishell G. J. i Rudy B. (2019). Four unique interneuron populations reside in neocortical layer 1. *The Journal of Neuroscience*, *39*(1), 125–139. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1613-18.2018
417. Sehgal M., Ehlers V. L. i Moyer J. R. (2014). Learning enhances intrinsic excitability in a subset of lateral amygdala neurons. *Learning and Memory*, *21*(3), 161–170. DOI:10.1101/lm.032730.113
418. Sehgal M., Song C., Ehlers V. L. i Moyer J. R. (2013). Learning to learn – intrinsic plasticity as a metaplasticity mechanism for memory formation. *Neurobiology of Learning and Memory*, *105*(October), 186–199. DOI:10.1016/j.nlm.2013.07.008
419. Sermet B. S., Truschow P., Feyerabend M., Mayrhofer J. M., Oram T. B., Yizhar O., Staiger J. F. i Petersen C. C. H. (2019). Pathway-, layer- and cell-type-specific thalamic input to mouse barrel cortex. *eLife*, *8*, e52665. DOI:10.7554/eLife.52665
420. Severson K. S., Xu D., Van de Loo M., Bai L., Ginty D. D. i O’Connor D. H. (2017). Active touch and self-motion encoding by Merkel cell-associated afferents. *Neuron*, *94*(3), 666–676.e9. DOI:10.1016/j.neuron.2017.03.045
421. Shen W., Tian X., Day M., Ulrich S., Tkatch T., Nathanson N. M. i Surmeier D. J. (2007). Cholinergic modulation of Kir2 channels selectively elevates dendritic excitability in striatopallidal neurons. *Nature Neuroscience*, *10*(11), 1458–1466. DOI:10.1038/nn1972
422. Shibasaki K., Suzuki M., Mizuno A. i Tominaga M. (2007). Effects of body temperature on neural activity in the hippocampus: regulation of resting membrane potentials by transient receptor potential vanilloid 4. *Journal of Neuroscience*, *27*(7), 1566–1575. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4284-06.2007
423. Shibata A. C. E., Ueda H. H., Eto K., Onda M., Sato A., Ohba T., Nabekura J. i Murakoshi H. (2021). Photoactivatable CaMKII induces synaptic plasticity in single synapses. *Nature Communications*, *12*, 751. DOI:10.1038/s41467-021-21025-6

424. Shim H. G., Jang D. C., Lee J., Chung G., Lee S., Kim Y. G., Jeon D. E. i Kim S. J. (2017). Long-term depression of intrinsic excitability accompanied by synaptic depression in cerebellar Purkinje cells. *Journal of Neuroscience*, 37(23), 5659–5669. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3464-16.2017
425. Siddoway B., Hou H. i Xia H. (2014). Molecular mechanisms of homeostatic synaptic downscaling. *Neuropharmacology*, 78, 38–44. DOI:10.1016/j.neuropharm.2013.07.009
426. Silberberg G. i Markram H. (2007). Disynaptic inhibition between neocortical pyramidal cells mediated by Martinotti cells. *Neuron*, 53(5), 735–746. DOI:10.1016/j.neuron.2007.02.012
427. Sims K. B., Hoffman D. L., Said S. I. i Zimmerman E. A. (1980). Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) in mouse and rat brain: an immunocytochemical study. *Brain Research*, 186(1), 165–183. DOI:10.1016/0006-8993(80)90263-2
428. Siucinska E., Brutkowski W. i Bernas T. (2018). CB1 cannabinoid receptor expression in the barrel field region is associated with mouse learning. *ACS Chemical Neuroscience*, 9(6), 1304–1316. DOI:10.1021/acscemneuro.7b00500
429. Siucinska E. i Kossut M. (1996). Short-lasting classical conditioning induces reversible changes of representational maps of vibrissae in mouse SI cortex — a 2DG study. *Cerebral Cortex*, 6(3), 506–513. DOI:10.1093/cercor/6.3.506
430. Siucinska E. i Kossut M. (2006). Short-term sensory learning does not alter parvalbumin neurons in the barrel cortex of adult mice: a double-labeling study. *Neuroscience*, 138(2), 715–724. DOI:10.1016/j.neuroscience.2005.11.053
431. Siucinska E., Kossut M. i Stewart M. G. (1999). GABA immunoreactivity in mouse barrel field after aversive and appetitive classical conditioning training involving facial vibrissae. *Brain Research*, 843(1–2), 62–70. DOI:10.1016/S0006-8993(99)01881-8
432. Sohn J., Hioki H., Okamoto S. i Kaneko T. (2014). Preprodynorphin-expressing neurons constitute a large subgroup of somatostatin-expressing GABAergic interneurons in the mouse neocortex. *Journal of Comparative Neurology*, 522(7), 1506–1526. DOI:10.1002/cne.23477
433. Somogyi P. (1977). A specific ‘axo-axonal’ interneuron in the visual cortex of the rat. *Brain Research*, 136(2), 345–350. DOI:10.1016/0006-8993(77)90808-3
434. Somogyi P., Hodgson A., Smith A., Nunzi M., Gorio A. i Wu J. (1984). Different populations of GABAergic neurons in the visual cortex and hippocampus of cat contain somatostatin- or cholecystokinin- immunoreactive material. *The Journal of Neuroscience*, 4(10), 2590–2603. DOI:10.1523/JNEUROSCI.04-10-02590.1984

435. Somogyi P., Kisvárdy Z. F., Martin K. A. C. i Whitteridge D. (1983). Synaptic connections of morphologically identified and physiologically characterized large basket cells in the striate cortex of cat. *Neuroscience*, *10*(2), 261–294. DOI:10.1016/0306-4522(83)90133-1
436. Song C., Ehlers V. L. i Moyer J. R. (2015). Trace fear conditioning differentially modulates intrinsic excitability of medial prefrontal cortex-basolateral complex of amygdala projection neurons in infralimbic and prelimbic cortices. *Journal of Neuroscience*, *35*(39), 13511–13524. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2329-15.2015
437. Sorg O. i Magistretti P. J. (1991). Characterization of the glycogenolysis elicited by vasoactive intestinal peptide, noradrenaline and adenosine in primary cultures of mouse cerebral cortical astrocytes. *Brain Research*, *563*(1–2), 227–233. DOI:10.1016/0006-8993(91)91538-C
438. Souchet B., Guedj F., Sahún I., Duchon A., Daubigney F., Badel A., Yanagawa Y., Barallobre M. J., Dierssen M., Yu E., Herault Y., Arbones M., Janel N., Créau N. i Delabar J. M. (2014). Excitation/inhibition balance and learning are modified by *Dyrk1a* gene dosage. *Neurobiology of Disease*, *69*(September), 65–75. DOI:10.1016/j.nbd.2014.04.016
439. Sourdret V. i Debanne D. (1999). The role of dendritic filtering in associative long-term synaptic plasticity. *Learning & Memory*, *6*(5), 422–447. DOI:10.1101/lm.6.5.422
440. Sourdret V., Russier M., Daoudal G., Ankri N. i Debanne D. (2003). Long-term enhancement of neuronal excitability and temporal fidelity mediated by metabotropic glutamate receptor subtype 5. *The Journal of Neuroscience*, *23*(32), 10238–10248. DOI:10.1523/JNEUROSCI.23-32-10238.2003
441. Staiger J. F. i Petersen C. C. H. (2021). Neuronal circuits in barrel cortex for whisker sensory perception. *Physiological Reviews*, *101*(1), 353–415. DOI:10.1152/physrev.00019.2019
442. Stein I. S., Gray J. A. i Zito K. (2015). Non-ionotropic NMDA receptor signaling drives activity-induced dendritic spine shrinkage. *Journal of Neuroscience*, *35*(35), 12303–12308. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4289-14.2015
443. Stellwagen D. i Malenka R. C. (2006). Synaptic scaling mediated by glial TNF- α . *Nature*, *440*(7087), 1054–1059. DOI:10.1038/nature04671
444. Steriade M. (1978). Cortical long-axoned cells and putative interneurons during the sleep-waking cycle. *Behavioral and Brain Sciences*, *1*(3), 465–485. DOI:10.1017/S0140525X00076111
445. Su H., Sochivko D., Becker A., Chen J., Jiang Y., Yaari Y. i Beck H. (2002). Upregulation of a T-type Ca²⁺ channel causes a long-lasting modification of neuronal firing mode after status epilepticus. *The Journal of Neuroscience*, *22*(9), 3645–3655. DOI:10.1523/JNEUROSCI.22-09-03645.2002

446. Sullivan R. M., Landers M. S., Flemming J., Vaught C., Young T. A. i Jonathan Polan H. (2003). Characterizing the functional significance of the neonatal rat vibrissae prior to the onset of whisking. *Somatosensory & Motor Research*, 20(2), 157–162. DOI:10.1080/0899022031000105190
447. Sun Q.-Q. (2009). Experience-dependent intrinsic plasticity in interneurons of barrel cortex layer IV. *Journal of Neurophysiology*, 102(5), 2955–2973. DOI:10.1152/jn.00562.2009
448. Sun Q., Huguenard J. R. i Prince D. A. (2006). Barrel cortex microcircuits: thalamocortical feedforward inhibition in spiny stellate cells is mediated by a small number of fast-spiking interneurons. *The Journal of Neuroscience*, 26(4), 1219–1230. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4727-04.2006
449. Tai C., Abe Y., Westenbroek R. E., Scheuer T. i Catterall W. A. (2014). Impaired excitability of somatostatin- and parvalbumin-expressing cortical interneurons in a mouse model of Dravet syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(30), 3139–3148. DOI:10.1073/pnas.1411131111
450. Tallent M. K. i Siggins G. R. (1997). Somatostatin depresses excitatory but not inhibitory neurotransmission in rat CA1 hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 78(6), 3008–3018. DOI:10.1152/jn.1997.78.6.3008
451. Tamamaki N. i Tomioka R. (2010). Long-range GABAergic connections distributed throughout the neocortex and their possible function. *Frontiers in Neuroscience*, 4(December), 202. DOI:10.3389/fnins.2010.00202
452. Tanaka D. H. i Nakajima K. (2012). GABAergic interneuron migration and the evolution of the neocortex. *Development Growth and Differentiation*, 54(3), 366–372. DOI:10.1111/j.1440-169X.2012.01351.x
453. Taniguchi H., Lu J. i Huang Z. J. (2013). The spatial and temporal origin of chandelier cells in mouse neocortex. *Science*, 339(6115), 70–74. DOI:10.1126/science.1227622
454. Tanner G. R., Lutas A., Martinez-Francois J. R. i Yellen G. (2011). Single KATP channel opening in response to action potential firing in mouse dentate granule neurons. *Journal of Neuroscience*, 31(23), 8689–8696. DOI:10.1523/JNEUROSCI.5951-10.2011
455. Thimm A. i Funke K. (2015). Multiple blocks of intermittent and continuous theta-burst stimulation applied via transcranial magnetic stimulation differently affect sensory responses in rat barrel cortex. *The Journal of Physiology*, 593(4), 967–985. DOI:10.1113/jphysiol.2014.282467
456. Tian J., Geng F., Gao F., Chen Y.-H., Liu J.-H., Wu J.-L., Lan Y.-J., Zeng Y.-N., Li X.-W., Yang J.-M. i Gao T.-M. (2017). Down-regulation of neuregulin1/ErbB4 signaling in the hippocampus is critical for learning and memory. *Molecular Neurobiology*, 54(6), 3976–3987. DOI:10.1007/s12035-016-9956-5

457. Toader O., von Heimendahl M., Schuelert N., Nissen W. i Rosenbrock H. (2020). Suppression of parvalbumin interneuron activity in the prefrontal cortex recapitulates features of impaired excitatory/inhibitory balance and sensory processing in schizophrenia. *Schizophrenia Bulletin*, 46(4), 981–989. DOI:10.1093/schbul/sbz123
458. Tokarski K., Urban-Ciecko J., Kossut M. i Hess G. (2007). Sensory learning-induced enhancement of inhibitory synaptic transmission in the barrel cortex of the mouse. *European Journal of Neuroscience*, 26(1), 134–141. DOI:10.1111/j.1460-9568.2007.05629.x
459. Toledo-Rodriguez M., Blumenfeld B., Wu C., Luo J., Attali B., Goodman P. i Markram H. (2004). Correlation maps allow neuronal electrical properties to be predicted from single-cell gene expression profiles in rat neocortex. *Cerebral Cortex*, 14(12), 1310–1327. DOI:10.1093/cercor/bhh092
460. Tomasello D. L., Hurley E., Wrabetz L. i Bhattacharjee A. (2017). Slick (Kcnt2) sodium-activated potassium channels limit peptidergic nociceptor excitability and hyperalgesia. *Journal of Experimental Neuroscience*, 11, 1179069517726996. DOI:10.1177/1179069517726996
461. Tremblay R., Lee S. i Rudy B. (2016). GABAergic interneurons in the neocortex: from cellular properties to circuits. *Neuron*, 91(2), 260–292. DOI:10.1016/j.neuron.2016.06.033
462. Tsubokawa H., Offermanns S., Simon M. i Kano M. (2000). Calcium-dependent persistent facilitation of spike backpropagation in the CA1 pyramidal neurons. *The Journal of Neuroscience*, 20(13), 4878–4884. DOI:10.1523/JNEUROSCI.20-13-04878.2000
463. Turi G. F., Li W.-K., Chavlis S., Pandi I., O’Hare J., Priestley J. B., Grosmark A. D., Liao Z., Ladow M., Zhang J. F., Zemelman B. V., Poirazi P. i Losonczy A. (2019). Vasoactive intestinal polypeptide-expressing interneurons in the hippocampus support goal-oriented spatial learning. *Neuron*, 101(6), 1150–1165.e8. DOI:10.1016/j.neuron.2019.01.009
464. Turrigiano G. (2011). Too many cooks? Intrinsic and synaptic homeostatic mechanisms in cortical circuit refinement. *Annual Review of Neuroscience*, 34(1), 89–103. DOI:10.1146/annurev-neuro-060909-153238
465. Turrigiano G. (2012). Homeostatic synaptic plasticity: local and global mechanisms for stabilizing neuronal function. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 4(1), a005736. DOI:10.1101/cshperspect.a005736
466. Turrigiano G. G. (2008). The self-tuning neuron: synaptic scaling of excitatory synapses. *Cell*, 135(3), 422–435. DOI:10.1016/j.cell.2008.10.008
467. Turrigiano G. G., Leslie K. R., Desai N. S., Rutherford L. C. i Nelson S. B. (1998). Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature*, 391(6670), 892–896. DOI:10.1038/36103

468. Turrigiano G. G. i Nelson S. B. (1998). Thinking globally, acting locally. *Neuron*, 21(5), 933–935. DOI:10.1016/S0896-6273(00)80607-8
469. Turrigiano G. G. i Nelson S. B. (2000). Hebb and homeostasis in neuronal plasticity. *Current Opinion in Neurobiology*, 10(3), 358–364. DOI:10.1016/S0959-4388(00)00091-X
470. Uematsu M., Hirai Y., Karube F., Ebihara S., Kato M., Abe K., Obata K., Yoshida S., Hirabayashi M., Yanagawa Y. i Kawaguchi Y. (2008). Quantitative chemical composition of cortical GABAergic neurons revealed in transgenic venus-expressing rats. *Cerebral Cortex*, 18(2), 315–330. DOI:10.1093/cercor/bhm056
471. Urbain N., Salin P. A., Libourel P.-A., Comte J.-C., Gentet L. J. i Petersen C. C. H. (2015). Whisking-related changes in neuronal firing and membrane potential dynamics in the somatosensory thalamus of awake mice. *Cell Reports*, 13(4), 647–656. DOI:10.1016/j.celrep.2015.09.029
472. Urban-Ciecko J. i Barth A. L. (2016). Somatostatin-expressing neurons in cortical networks. *Nature Reviews Neuroscience*, 17(7), 401–409. DOI:10.1038/nrn.2016.53
473. Urban-Ciecko J., Fanselow E. E. i Barth A. L. (2015). Neocortical somatostatin neurons reversibly silence excitatory transmission via GABA_B receptors. *Current Biology*, 25(6), 722–731. DOI:10.1016/j.cub.2015.01.035
474. Urban-Ciecko J., Kossut M. i Mozrzymas J. W. (2010). Sensory learning differentially affects GABAergic tonic currents in excitatory neurons and fast spiking interneurons in layer 4 of mouse barrel cortex. *Journal of Neurophysiology*, 104(2), 746–754. DOI:10.1152/jn.00988.2009
475. Van der Loos H. (1976). Barreloids in mouse somatosensory thalamus. *Neuroscience Letters*, 2(1), 1–6. DOI:10.1016/0304-3940(76)90036-7
476. Van der Loos H. i Woolsey T. A. (1973). Somatosensory cortex: structural alterations following early injury to sense organs. *Science*, 179(4071), 395–398. DOI:10.1126/science.179.4071.395
477. van Praag H., Christie B. R., Sejnowski T. J. i Gage F. H. (1999). Running enhances neurogenesis, learning, and long-term potentiation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(23), 13427–13431. DOI:10.1073/pnas.96.23.13427
478. Varela J. A., Wang J., Christianson J. P., Maier S. F. i Cooper D. C. (2012). Control over stress, but not stress per se increases prefrontal cortical pyramidal neuron excitability. *Journal of Neuroscience*, 32(37), 12848–12853. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2669-12.2012

479. Varga A. W., Yuan L. L., Anderson A. E., Schrader L. A., Wu G. Y., Gatchel J. R., Johnston D. i Sweatt J. D. (2004). Calcium-calmodulin-dependent kinase II modulates Kv4.2 channel expression and upregulates neuronal A-type potassium currents. *Journal of Neuroscience*, 24(14), 3643–3654. DOI:10.1523/JNEUROSCI.0154-04.2004
480. Venkatachalam K. i Montell C. (2007). TRP channels. *Annual Review of Biochemistry*, 76(1), 387–417. DOI:10.1146/annurev.biochem.75.103004.142819
481. von Bernhardt R., Eugenín-von Bernhardt L. i Eugenín J. (2017). What Is Neural Plasticity? W: von Bernhardt R., Eugenín J., i Muller K. J. (Red.), *The Plastic Brain. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1015 (I, s. 1–15). Cham: Wydawnictwo Springer International Publishing AG. ISBN: 978-3-319-62815-8
482. von Engelhardt J., Eliava M., Meyer A. H., Rozov A. i Monyer H. (2007). Functional characterization of intrinsic cholinergic interneurons in the cortex. *Journal of Neuroscience*, 27(21), 5633–5642. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4647-06.2007
483. Voss L. J. i Sleigh J. W. (2010). Stability of brain neocortical slice seizure-like activity during low-magnesium exposure: measurement and effect of artificial cerebrospinal fluid temperature. *Journal of Neuroscience Methods*, 192(2), 214–218. DOI:10.1016/j.jneumeth.2010.07.025
484. Vruwink M., Schmidt H. H. H. W., Weinberg R. J. i Burette A. (2001). Substance P and nitric oxide signaling in cerebral cortex: anatomical evidence for reciprocal signaling between two classes of interneurons. *The Journal of Comparative Neurology*, 441(4), 288–301. DOI:10.1002/cne.1413
485. Walker F., Möck M., Feyerabend M., Guy J., Wagener R. J., Schubert D., Staiger J. F. i Witte M. (2016). Parvalbumin- and vasoactive intestinal polypeptide-expressing neocortical interneurons impose differential inhibition on Martinotti cells. *Nature Communications*, 7, 13664. DOI:10.1038/ncomms13664
486. Wall M. J., Robert A., Howe J. R. i Usowicz M. M. (2002). The speeding of EPSC kinetics during maturation of a central synapse. *European Journal of Neuroscience*, 15(5), 785–797. DOI:10.1046/j.1460-9568.2002.01910.x
487. Wang H. S., Pan Z., Shi W., Brown B. S., Wymore R. S., Cohen I. S., Dixon J. E. i McKinnon D. (1998). KCNQ2 and KCNQ3 potassium channel subunits: molecular correlates of the M-channel. *Science*, 282(5395), 1890–1893. DOI:10.1126/science.282.5395.1890
488. Wang H. i Wagner J. J. (1999). Priming-induced shift in synaptic plasticity in the rat hippocampus. *Journal of Neurophysiology*, 82(4), 2024–2028. DOI:10.1152/jn.1999.82.4.2024
489. Wang Y., Gupta A., Toledo-Rodriguez M., Wu C. Z. i Markram H. (2002). Anatomical, physiological, molecular and circuit properties of nest basket cells in the developing somatosensory cortex. *Cerebral Cortex*, 12(4), 395–410. DOI:10.1093/cercor/12.4.395

490. Wang Y., Toledo-Rodriguez M., Gupta A., Wu C., Silberberg G., Luo J. i Markram H. (2004). Anatomical, physiological and molecular properties of Martinotti cells in the somatosensory cortex of the juvenile rat. *The Journal of Physiology*, 561(1), 65–90. DOI:10.1113/jphysiol.2004.073353
491. Wang Z., Xu N., Wu C., Duan S. i Poo M. (2003). Bidirectional changes in spatial dendritic integration accompanying long-term synaptic modifications. *Neuron*, 37(3), 463–472. DOI:10.1016/S0896-6273(02)01189-3
492. Warren R. J. i Durand D. M. (1998). Effects of applied currents on spontaneous epileptiform activity induced by low calcium in the rat hippocampus. *Brain Research*, 806(2), 186–195. DOI:10.1016/S0006-8993(98)00723-9
493. Watson T. W. J. i Pittman Q. J. (1988). Somatostatin(14) and -(28) but not somatostatin(1-12) hyperpolarize CA1 pyramidal neurons *in vitro*. *Brain Research*, 448(1), 40–45. DOI:10.1016/0006-8993(88)91099-2
494. Weber M., Schmitt A., Wischmeyer E. i Döring F. (2008). Excitability of pontine startle processing neurones is regulated by the two-pore-domain K⁺ channel TASK-3 coupled to 5-HT_{2C} receptors. *European Journal of Neuroscience*, 28(5), 931–940. DOI:10.1111/j.1460-9568.2008.06400.x
495. Welker W. I. (1964). Analysis of sniffing of the albino rat. *Behaviour*, 22(3–4), 223–244. DOI:10.1163/156853964X00030
496. Wenger G. R., Schmidt C. i Davisson M. T. (2004). Operant conditioning in the Ts65Dn mouse: learning. *Behavior Genetics*, 34(1), 105–119. DOI:10.1023/B:BEGE.0000009480.79586.ee
497. Whitaker L. R., Warren B. L., Venniro M., Harte T. C., McPherson K. B., Beidel J., Bossert J. M., Shaham Y., Bonci A. i Hope B. T. (2017). Bidirectional modulation of intrinsic excitability in rat prelimbic cortex neuronal ensembles and non-ensembles after operant learning. *Journal of Neuroscience*, 37(36), 8845–8856. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3761-16.2017
498. Wierenga C. J., Ibata K. i Turrigiano G. G. (2005). Postsynaptic expression of homeostatic plasticity at neocortical synapses. *The Journal of Neuroscience*, 25(11), 2895–2905. DOI:10.1523/JNEUROSCI.5217-04.2005
499. Williams S. B. i Hablitz J. J. (2015). Differential modulation of repetitive firing and synchronous network activity in neocortical interneurons by inhibition of A-type K⁺ channels and I_h. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9(March), 89. DOI:10.3389/fncel.2015.00089
500. Wimmer V. C., Bruno R. M., de Kock C. P. J., Kuner T. i Sakmann B. (2010). Dimensions of a projection column and architecture of VPM and POm axons in rat vibrissal cortex. *Cerebral Cortex*, 20(10), 2265–2276. DOI:10.1093/cercor/bhq068

501. Wlodarczyk A. I., Xu C., Song I., Doronin M., Wu Y.-W., Walker M. C. i Semyanov A. (2013). Tonic GABAA conductance decreases membrane time constant and increases EPSP-spike precision in hippocampal pyramidal neurons. *Frontiers in Neural Circuits*, 7(December), 205. DOI:10.3389/fncir.2013.00205
502. Wolff S. B. E., Gründemann J., Tovote P., Krabbe S., Jacobson G. A., Müller C., Herry C., Ehrlich I., Friedrich R. W., Letzkus J. J. i Lüthi A. (2014). Amygdala interneuron subtypes control fear learning through disinhibition. *Nature*, 509(7501), 453–458. DOI:10.1038/nature13258
503. Woo N. H. i Nguyen P. V. (2002). “Silent” metaplasticity of the late phase of long-term potentiation requires protein phosphatases. *Learning & Memory*, 9(4), 202–213. DOI:10.1101/lm.498402
504. Woo S.-H., Ranade S., Weyer A. D., Dubin A. E., Baba Y., Qiu Z., Petrus M., Miyamoto T., Reddy K., Lumpkin E. A., Stucky C. L. i Patapoutian A. (2014). Piezo2 is required for Merkel-cell mechanotransduction. *Nature*, 509(7502), 622–626. DOI:10.1038/nature13251
505. Woodruff A. R., McGarry L. M., Vogels T. P., Inan M., Anderson S. A. i Yuste R. (2011). State-dependent function of neocortical chandelier cells. *Journal of Neuroscience*, 31(49), 17872–17886. DOI:10.1523/JNEUROSCI.3894-11.2011
506. Woodruff A., Xu Q., Anderson S. A. i Yuste R. (2009). Depolarizing effect of neocortical chandelier neurons. *Frontiers in Neural Circuits*, 3(October), 15. DOI:10.3389/neuro.04.015.2009
507. Woolsey T. A. i Van der Loos H. (1970). The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units. *Brain Research*, 17(2), 205–242. DOI:10.1016/0006-8993(70)90079-X
508. Wozny C. i Williams S. R. (2011). Specificity of synaptic connectivity between layer 1 inhibitory interneurons and layer 2/3 pyramidal neurons in the rat neocortex. *Cerebral Cortex*, 21(8), 1818–1826. DOI:10.1093/cercor/bhq257
509. Xia F., Richards B. A., Tran M. M., Josselyn S. A., Takehara-Nishiuchi K. i Frankland P. W. (2017). Parvalbumin-positive interneurons mediate neocortical-hippocampal interactions that are necessary for memory consolidation. *eLife*, 6, e27868. DOI:10.7554/eLife.27868
510. Xiao Z., Deng P.-Y., Rojanathammanee L., Yang C., Grisanti L., Permpoonputtana K., Weinshenker D., Doze V. A., Porter J. E. i Lei S. (2009). Noradrenergic depression of neuronal excitability in the entorhinal cortex via activation of TREK-2 K⁺ channels. *Journal of Biological Chemistry*, 284(16), 10980–10991. DOI:10.1074/jbc.M806760200

511. Xu H., Jeong H. Y., Tremblay R. i Rudy B. (2013). Neocortical somatostatin-expressing GABAergic interneurons disinhibit the thalamorecipient layer 4. *Neuron*, 77(1), 155–167. DOI:10.1016/j.neuron.2012.11.004
512. Xu H., Liu L., Tian Y., Wang J., Li J., Zheng J., Zhao H., He M., Xu T.-L., Duan S. i Xu H. (2019). A disinhibitory microcircuit mediates conditioned social fear in the prefrontal cortex. *Neuron*, 102(3), 668–682.e5. DOI:10.1016/j.neuron.2019.02.026
513. Xu J., Kang N., Jiang L., Nedergaard M. i Kang J. (2005). Activity-dependent long-term potentiation of intrinsic excitability in hippocampal CA1 pyramidal neurons. *Journal of Neuroscience*, 25(7), 1750–1760. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4217-04.2005
514. Xu X. i Callaway E. M. (2009). Laminar specificity of functional input to distinct types of inhibitory cortical neurons. *Journal of Neuroscience*, 29(1), 70–85. DOI:10.1523/JNEUROSCI.4104-08.2009
515. Xu X., Roby K. D. i Callaway E. M. (2010). Immunochemical characterization of inhibitory mouse cortical neurons: three chemically distinct classes of inhibitory cells. *The Journal of Comparative Neurology*, 518(3), 389–404. DOI:10.1002/cne.22229
516. Xu Y., Wang M.-L., Tao H., Geng C., Guo F., Hu B., Wang R. i Hou X. (2022). ErbB4 in parvalbumin-positive interneurons mediates proactive interference in olfactory associative reversal learning. *Neuropsychopharmacology*, 47(7), 1292–1303. DOI:10.1038/s41386-021-01205-0
517. Yamamuro K., Bicks L. K., Leventhal M. B., Kato D., Im S., Flanigan M. E., Garkun Y., Norman K. J., Caro K., Sadahiro M., Kullander K., Akbarian S., Russo S. J. i Morishita H. (2020). A prefrontal–paraventricular thalamus circuit requires juvenile social experience to regulate adult sociability in mice. *Nature Neuroscience*, 23(10), 1240–1252. DOI:10.1038/s41593-020-0695-6
518. Yáñez M., Gil-Longo J. i Campos-Toimil M. (2012). Calcium Binding Proteins. W: Islam S. (Red.), *Calcium Signaling. Advances in Experimental Medicine and Biology* (I, T. 740, s. 461–482). Dordrecht: Wydawnictwo Springer. ISBN: 978-94-007-2887-5
519. Yang G. i Gan W.-B. (2012). Sleep contributes to dendritic spine formation and elimination in the developing mouse somatosensory cortex. *Developmental Neurobiology*, 72(11), 1391–1398. DOI:10.1002/dneu.20996
520. Yang Y. i Liu J.-J. (2022). Structural LTP: signal transduction, actin cytoskeleton reorganization, and membrane remodeling of dendritic spines. *Current Opinion in Neurobiology*, 74, 102534. DOI:10.1016/j.conb.2022.102534
521. Yasuda R., Sabatini B. L. i Svoboda K. (2003). Plasticity of calcium channels in dendritic spines. *Nature Neuroscience*, 6(9), 948–955. DOI:10.1038/nn1112

522. Yee A. X., Hsu Y. i Chen L. (2017). A metaplasticity view of the interaction between homeostatic and Hebbian plasticity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1715), 20160155. DOI:10.1098/rstb.2016.0155
523. Yi F., Ball J., Stoll K. E., Satpute V. C., Mitchell S. M., Pauli J. L., Holloway B. B., Johnston A. D., Nathanson N. M., Deisseroth K., Gerber D. J., Tonegawa S. i Lawrence J. J. (2014). Direct excitation of parvalbumin-positive interneurons by M1 muscarinic acetylcholine receptors: roles in cellular excitability, inhibitory transmission and cognition. *The Journal of Physiology*, 592(16), 3463–3494. DOI:10.1113/jphysiol.2014.275453
524. Yousuf H., Ehlers V. L., Sehgal M., Song C. i Moyer J. R. (2020). Modulation of intrinsic excitability as a function of learning within the fear conditioning circuit. *Neurobiology of Learning and Memory*, 167(January), 107132. DOI:10.1016/j.nlm.2019.107132
525. Yu J., Gutnisky D. A., Hires S. A. i Svoboda K. (2016). Layer 4 fast-spiking interneurons filter thalamocortical signals during active somatosensation. *Nature Neuroscience*, 19(12), 1647–1657. DOI:10.1038/nn.4412
526. Yu W., Yen Y., Lee Y., Tan S., Xiao Y., Lokman H., Ting A. K. T., Ganegala H., Kwon T., Ho W. i Je H. S. (2019). Prenatal selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) exposure induces working memory and social recognition deficits by disrupting inhibitory synaptic networks in male mice. *Molecular Brain*, 12(1), 29. DOI:10.1186/s13041-019-0452-5
527. Zagha E., Manita S., Ross W. N. i Rudy B. (2010). Dendritic Kv3.3 potassium channels in cerebellar Purkinje cells regulate generation and spatial dynamics of dendritic Ca²⁺ spikes. *Journal of Neurophysiology*, 103(6), 3516–3525. DOI:10.1152/jn.00982.2009
528. Zaitsev A. V., Gonzalez-Burgos G., Povysheva N. V., Kröner S., Lewis D. A. i Krimer L. S. (2005). Localization of calcium-binding proteins in physiologically and morphologically characterized interneurons of monkey dorsolateral prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 15(8), 1178–1186. DOI:10.1093/cercor/bhh218
529. Zaitsev A. V., Povysheva N. V., Gonzalez-Burgos G., Rotaru D., Fish K. N., Krimer L. S. i Lewis D. A. (2009). Interneuron diversity in layers 2-3 of monkey prefrontal cortex. *Cerebral Cortex*, 19(7), 1597–1615. DOI:10.1093/cercor/bhn198
530. Zhang L. (2005). Hippocampal synaptic metaplasticity requires inhibitory autophosphorylation of Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase II. *Journal of Neuroscience*, 25(33), 7697–7707. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2086-05.2005
531. Zhang L. I., Bao S. i Merzenich M. M. (2002). Disruption of primary auditory cortex by synchronous auditory inputs during a critical period. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(4), 2309–2314. DOI:10.1073/pnas.261707398

532. Zhang Q., Gao S.-H., Shen Z.-S., Wang Y., Hu S.-W., Duan G.-B., Liu Y., Zhong D.-Y., Liu J., Sun M.-H., Zhang X., Cao T.-Y., Cao J.-L., Tang Q.-Y. i Zhang Z. (2022). The Slack channel regulates anxiety-like behaviors via basolateral amygdala glutamatergic projections to ventral hippocampus. *The Journal of Neuroscience*, 42(14), 3049–3064. DOI:10.1523/JNEUROSCI.2027-21.2022
533. Zhang W. i Linden D. J. (2003). The other side of the engram: experience-driven changes in neuronal intrinsic excitability. *Nature Reviews Neuroscience*, 4(11), 885–900. DOI:10.1038/nrn1248
534. Zhang W., Xiong B.-R., Zhang L.-Q., Huang X., Yuan X., Tian Y.-K. i Tian X.-B. (2021). The role of the GABAergic system in diseases of the central nervous system. *Neuroscience*, 470, 88–99. DOI:10.1016/j.neuroscience.2021.06.037
535. Zhang W., Zhang L., Liang B., Schroeder D., Zhang Z., Cox G. A., Li Y. i Lin D.-T. (2016). Hyperactive somatostatin interneurons contribute to excitotoxicity in neurodegenerative disorders. *Nature Neuroscience*, 19(4), 557–559. DOI:10.1038/nn.4257
536. Zhang Y., Lu H. i Bargmann C. I. (2005). Pathogenic bacteria induce aversive olfactory learning in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, 438(7065), 179–184. DOI:10.1038/nature04216
537. Zhao C., Dreosti E. i Lagnado L. (2011). Homeostatic synaptic plasticity through changes in presynaptic calcium influx. *Journal of Neuroscience*, 31(20), 7492–7496. DOI:10.1523/JNEUROSCI.6636-10.2011
538. Zhou Q., Homma K. J. i Poo M. (2004). Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses. *Neuron*, 44(5), 749–757. DOI:10.1016/j.neuron.2004.11.011
539. Zhou X., Mansori I., Fischer T., Witte M. i Staiger J. F. (2020). Characterizing the morphology of somatostatin-expressing interneurons and their synaptic innervation pattern in the barrel cortex of the GFP-expressing inhibitory neurons mouse. *Journal of Comparative Neurology*, 528(2), 244–260. DOI:10.1002/cne.24756
540. Zimmerman A., Bai L. i Ginty D. D. (2014). The gentle touch receptors of mammalian skin. *Science*, 346(6212), 950–954. DOI:10.1126/science.1254229
541. Zorrilla de San Martin J., Donato C., Peixoto J., Aguirre A., Choudhary V., De Stasi A. M., Lourenço J., Potier M.-C. i Bacci A. (2020). Alterations of specific cortical GABAergic circuits underlie abnormal network activity in a mouse model of Down syndrome. *eLife*, 9, e58731. DOI:10.7554/eLife.58731
542. Zucker E. i Welker W. I. (1969). Coding of somatic sensory input by vibrissae neurons in the rat's trigeminal ganglion. *Brain Research*, 12(1), 138–156. DOI:10.1016/0006-8993(69)90061-4

8. Spis publikacji własnych

1. Kanigowski D., Urban-Ciećko J. (2020) Optogenetyka i inne metody kontroli aktywności komórek nerwowych. *Kosmos* 69, 59-80. DOI:10.36921/kos.2020_2618
2. Dobrzanski G., Lukomska A., Zakrzewska R., Posluszny A., Kanigowski D., Urban-Ciećko J., Liguz-Leczna M. i Kossut M. (2022). Learning-induced plasticity in the barrel cortex is disrupted by inhibition of layer 4 somatostatin-containing interneurons. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1869(1), 119146. DOI:10.1016/j.bbamcr.2021.119146

W recenzjach:

1. Tytuł: „c-Fos-MMP-9 pathway in central amygdala mediates approach motivation but not reward consumption”.
Autorzy: Lebitko T., Nowicka K., Dzik J., Kanigowski D., Jędrzejewska-Szmek J., Chaturvedi M., Jaworski T., Nikolaev T., Gorkiewicz T., Meyza K., Urban-Ciećko J., Kaczmarek L., Knapska E.
DOI:10.1101/2020.04.17.044792
2. Tytuł: „SST interneurons modulate neocortical network through GABA_B receptors in a synapse-specific manner”.
Autorzy: Kanigowski D., Bogaj K., Barth A. L., Urban-Ciećko J.
DOI:10.21203/rs.3.rs-2732198/v1