

Ma már általánosan elfogadott, hogy egyszerű mozgási mintázatokat szabályozó neuronális hálózatok a gerincvelőben találhatóak. A pályázatban e hálózatok szerkezetének és működésének megértéséhez kívántunk közelebb kerülni három kísérleti rendszer segítségével.

1. Béka gerincvelőben fiziológiai és morfológiai módszerekkel jellemeztük a propriospinalis axon – motoneuron kapcsolatokat. Számítógépes modellekben vizsgáltuk a poszt-szinaptikus potenciálok (PSP) terjedését a motoneuron dendritfákon, a PSP-ok térbeli és időbeli szummációját, különös tekintettel az azonosított propriospinalis szinapszisokra.
2. A *Xenopus* embrióban vizsgáltuk az úszómozgás létrejöttéért felelős központi ritmusgeneráló hálózat működését. Az utóagy-gerincvelő határát modellező neuronhálózati modellünkben sikerült alátámasztani azt a hipotézist, miszerint az utóagyi interneuronok között talált pozitív visszacsatolás (kölsönös és monoszínaptikus serkentő szinapszisok) képezi annak alapját, hogy egy rövid ideig tartó inger hosszú ideig tartó úszási epizódhoz vezet az embrióban.
3. Az emlős gerincvelőben vizsgáltuk a cink tartalmú terminálisok eloszlását illetve ezen terminálisokban a zink kolokalizációját serkentő és gátló aminosavakkal.
4. A stockholmi kollaborációs partnerrel konzultálva 2003-as évtől kezdődően új témaként elkezdtük a commissuralis interneuronok eloszlásának, morfológiájának, és szinaptikus kapcsolatainak vizsgálatát az emlős gerincvelőben.

## 1. Propriospinalis axon - gerincvelői motoneuron párok korrelatív fiziológiai, morfológiai vizsgálata és számítógépes modellezése

Dityatev és munkatársai (Neuroscience 106(2): 405-417, 2001) fiziológiai kísérletekben 47 individuális propriospinalis axon–motoneuron kapcsolatot azonosítottak a béka (*Rana esculenta*) gerincvelő lumbalis szakaszában. A preszinaptikus axonok áramimpulzusokkal történő ingerelése után a motoneuronokban mintegy két nagyságrendnyi eltérést találtak a kiváltott szomatikus serkentő posztszinaptikus potenciálok (EPSP) amplitúdójában. Ennek alapján a motoneuronokat az ún. “kis” (amplitúdó < 1,2 mV, intervallum: 0.1 – 1.2 mV, átlag  $\pm$  SD = 0.48  $\pm$  0.30 mV, n = 34) és “nagy” (amplitúdó > 1.2 mV, átlag  $\pm$  SD = 4.2  $\pm$  2.0 mV, n = 13) EPSP-t produkáló csoportokra osztották. A fiziológiai kísérleteket követően neurobiotint injektáltak a preszinaptikus axonba és a motoneuronba. Hét esetben sikeresen jelölődött mind propriospinális axon, mind a gerincvelői motoneuron ezeknél megtörtént a motoneuron dendritfák camera lucida rekonstrukciója és azonosítottuk a propriospinalis axonok és a motoneuron dendritek közötti szoros appozíciókat fénymikroszkópos szinten.

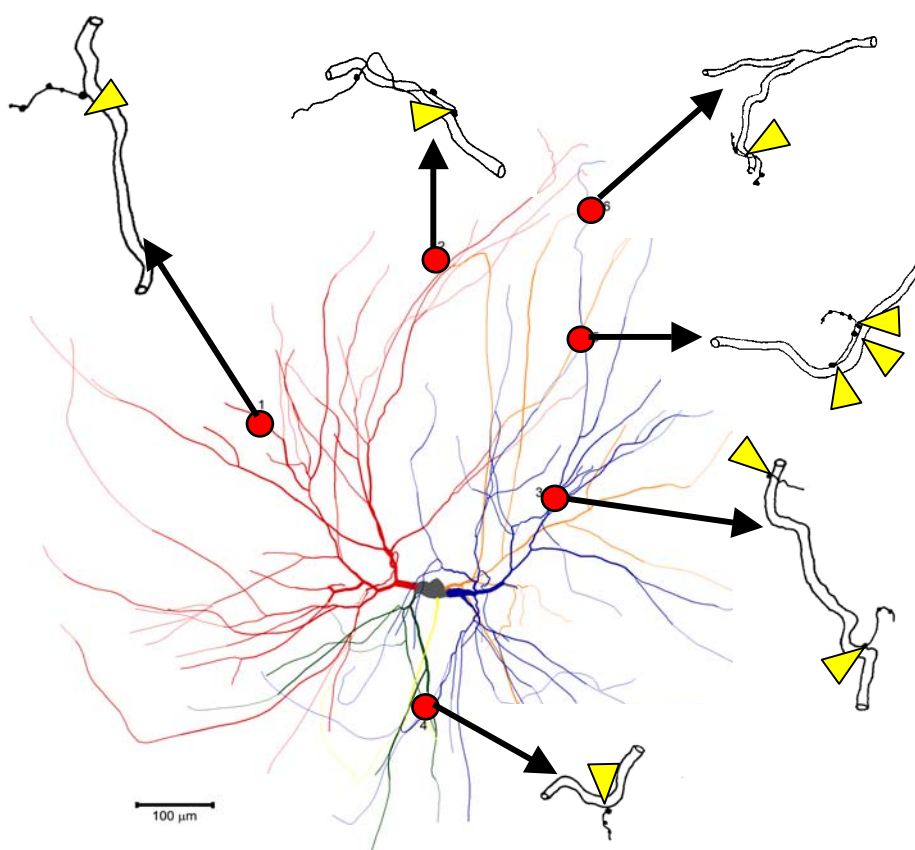
A project kidolgozása során elvégeztük a motoneuron dendritfák számítógépes modellezéshez szükséges nagy pontosságú térbeli rekonstrukcióját Neurolucida program segítségével. Három nagy és három kis EPSP-t kialakító propriospinális axon – motoneuron pár teljes térbeli rekonstrukcióját és kvantitatív morfológiai elemzését végeztük el (1.– 2. táblázat).

	large EPSPs		
Animal	163.1	168.1	182.1
No. of contacting zones	10	10	16
No. of contacting boutons	14	12	24
Diameter of contacting boutons mean $\pm$ S.D. minimum-maximum	0.92 $\pm$ 0.41 0.50-1.75	1.24 $\pm$ 0.53 0.50-2.0	0.71 $\pm$ 0.22 0.50-1.25
Distance of contact zones to the cell body mean $\pm$ S.D. minimum-maximum	349 $\pm$ 132 131-568	252 $\pm$ 156 22-611	249 $\pm$ 134 78-518
Diameter of dendrites at the sites of contact zones mean $\pm$ S.D. minimum-maximum	2.52 $\pm$ 1.34 1.10-6.50	1.13 $\pm$ 0.16 1.00-1.50	2.05 $\pm$ 0.80 1.00-3.20

1. táblázat

	small EPSPs			
Animal	165.1	169.1	207.1	209.1
No. of contacting zones	9	6	3	2
No. of contacting boutons	12	9	3	2
Diameter of contacting boutons				
mean $\pm$ S.D.	0.50 $\pm$ 0.0	0.81 $\pm$ 0.70	1.08 $\pm$ 0.79	1.15 $\pm$ 0.92
minimum-maximum	0.5-0.5	0.50-1.25	0.60-2.00	0.50-1.80
Distance of contact zones to the cell body				
mean $\pm$ S.D.	409 $\pm$ 120	598 $\pm$ 154	263 $\pm$ 180	160 $\pm$ 108
minimum-maximum	386-909	386-909	10-400	52-268
Diameter of dendrites at the sites of contact zones				
mean $\pm$ S.D.	1.07 $\pm$ 0.35	1.07 $\pm$ 0.35	1.20 $\pm$ 0.40	0.90 $\pm$ 0.14
minimum-maximum	0.50-1.50	0.50-1.50	0.80-1.60	0.80-1.00

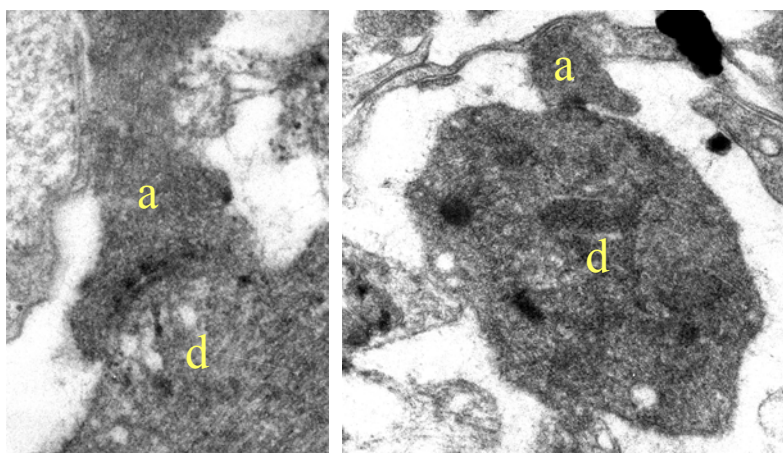
2. táblázat



1. ábra

Három dimenzióban rekonstruált motoneuron különböző dendritfái a rajtuk talált propriospinalis terminálisokkal. A piros pontok a kontaktusok helyeit jelölik, a sárga nyilak a boutonok és a dendritek közötti szoros appozíciókat mutatják.

Egy kis EPSP-t kialakító propriospinalis axon – motoneuron pár esetén a fénymikroszkópos szinten azonosított 9 szoros appozíció területéről (1. ábra) ultravékony sorozatmetszeteket készítettünk. A sorozatok elektronmikroszkópos vizsgálata alapján a kilenc lehetséges helyből 5 helyen találtunk valódi szinaptikus kapcsolatot a propriospinalis axon terminális és a motoneuron dendritek között (2. ábra).



2. ábra. Azonosított szinapszisok a propriospinalis axon terminálisok (a) és a motoneuron dendritek (d) között.

Jelenleg egy nagy EPSP-t kialakító sejten talált 14 szoros appozíció területének elektronmikroszkópos vizsgálatát végezzük. Eddig a fénymikroszkópban talált öt lehetséges helyből négy esetben sikerült azonosítani a szinapszisokat az elektronmikroszkópos sorozatmetszetekben.

### **Modellkísérletek**

A propriospinalis axonok ingerlésekor a motoneuronokban kiváltott “kis” vagy “nagy” EPSP részben preszinaptikus, részben posztzinaptikus faktorok függvénye lehet. A preszinaptikus faktorok jelentőségére utal az a tény, hogy Dityatev és mtsai. a ‘quantal analysis’ módszerével azt találták, hogy az ürülésre kész entitások számában többszörös eltérés van a “nagy”, illetve a “kis” EPSP-t mutató kapcsolatok között. A posztzinaptikus faktorok jelentőségére utal, hogy a “nagy” EPSP-t kialakító motoneuron populáció esetében az appozíciók száma átlagosan nagyobb, számától mért átlagos távolsága pedig kisebb, mint a “kis” EPSP-t produkáló motoneuronok esetében. Munkánk célja az volt, hogy

morfológiailag hű kábelmodellekben vizsgáljuk azon posztszinaptikus tulajdonságok szerepét, melyek az EPSP nagyságát kontrollálják.

A 3-dimenzióban rekonstruált dendritarborizáció és a morfológiai adatok segítségével a dendritikus ingerültvezetést szimulálni képes passzív szegmentális kábelmodelleket alkottunk. A számítógépes szimulációkat NEURON software segítségével végeztük, a morfológiai adatokat saját készítésű PASCAL programokkal adaptáltuk a NEURON programba. A szimulációk pontosságának növelése céljából a morfológiai adatokat a szöveti zsugorodás és az optikai torzulás figyelembevételével korrigáltuk. A kísérleti adatok alapján a béka motoneuronokra átlagosan  $1.4 \text{ M}\Omega$  input-ellenállást használtunk, a specifikus membránellenállás értékében különböző mértékű inhomogenitásokat tételeztünk fel a szóma-dendrit membránban. A szinapszisokat  $\alpha$ -függvény szerinti konduktancia változással modelleztük, melynek kinetikáját úgy állítottuk be, hogy a modell által produkált EPSP amplitúdója, emelkedési ideje és félérték szélessége a legjobban illeszkedjen a kísérletesen mért alakparaméterekhez.

A modellezés során 3 „nagy”, illetve 3 „kis” EPSP-t produkáló motoneuron esetében feltérképeztük a motoneuronok dendritjeinek morfoelektrotónikus tulajdonságait mind homogén, mind inhomogén szóma-dendrit membrán esetében. Az EM szinten azonosított propriospinalis axon - motoneuron kapcsolatban vizsgáltuk a szinapszisok által kiváltott PSP-okat, illetve azok szóma felé történő dendritikus terjedését.

#### ***A neuronok morfoelektrotónikus feltérképezése.***

A morfoelektrotónikus transzformáció módszerével (Zador A., J. Neurosci. 15:1669-82. 1995) vizsgáltuk a szinapszisok geometriai helyzetét és azok funkcionális súlya (a generált PSP nagysága a szómán, a dendritikus terjedés során bekövetkező gyengülést követően) közötti kapcsolatot. A motoneuron dendritfákon korábbi elektronmikroszkópos vizsgálatokban talált szinaptikus fedettségi adatok felhasználásával megbecsültük a teljes dendritarborizáció által fogadott szinapszisok számát. Ezen szinapszis számokat 100%-nak tekintettük és egy mátrixban ábrázoltuk, hogy a dendritfa különböző területein a szinapszisok hány százaléka található. Eredményeink azt mutatják, hogy:

1. A „nagy” EPSP-t kialakító motoneuronok esetében a propriospinalis kapcsolatok elsősorban azokban a morfoelektrotónikus dendrit pozíciókban találhatók, ahol az összes szinapszis többségét fogadják a dendritek. Ezzel szemben a „kis” EPSP-vel rendelkező sejt propriospinalis kontaktusai elsősorban azokon a morfoelektrotónikus helyeken találhatók, ahol a dendritek által fogadott összes szinapszis kisebb hányada helyezkedik el.

2. A szinapszis eloszlások ezen tulajdonságai nem függenek jelentősen a neuronok ellenállásától és a szóma-dendrit membrán inhomogenitásának a mértékétől.

### ***A thornok hatása a PSP-okra.***

Elektronmikroszkópos szinten a gerincvelői motoneuronok dendritjei a békában nem sima felszínűek, hanem irreguláris kitüremkedésekkel; 'thorn'-okkal rendelkeznek és a szinapszisok mintegy 25 %-a ezeken található. Korábbi morfológiai mérésekből származó adatok alapján megbecsültük a „thorn”ok összes számát a dendriteken és modelleztük, hogyan befolyásolja a „thorn”-ok átmérője és hossza a szómán mért EPSP-t. Azt találtuk, hogy a legkisebb kitüremkedések esetén a rajtuk elhelyezkedő szinapszisok által kiváltott EPSP amplitúdója akár a felére is csökkenhet, ha a szinapszist a „thorn” fogadja. Azon szinapszisok esetén viszont, amelyek a dendritfák sima felületű területén találhatók, a több tízezer kitüremkedés jelenléte csak mintegy 10-15%-kal csökkentik a szinapszis által kiváltott EPSP amplitúdót.

### ***Az EPSP-k nem-lineáris szummációjá***

Az egyes kontakt pozíciókban morfológiai vizsgálatokban azonosított propriospinális szinapszisokat szimultán aktiválva mértük a sejttesten a kiváltott EPSP amplitúdóját és ezt összehasonlítottuk az egyes szinapszisok által generált EPSP-k amplitúdóinak algebrai összegével. A szimultán szinaptikus aktivitással kiváltott EPSP amplitúdója jelentősen kisebb volt az algebrai összegnél. A szómától távoli vékony dendritek által fogadott szinapszisok PSP-jai – a nagyobb non-linearitás következtében - nagyobb veszteséggel szummálódnak, mint a szómához közeli vastag dendritek szinapszisai esetében. Ezek alapján feltételezzük, hogy a non-lineáris szummáció lényeges szerepet játszik a vizsgált sejtek EPSP amplitúdóinak differenciálásában.

### ***A dendritarborizáció szerepe a PSP-ok temporalis szummációjában***

Ezekben a szimulációkban a dendritfák különböző területein elhelyezkedő szinapszisok által generált PSP-oknak a szómára való terjedéséhez szükséges ún. teljes késési időket (total delay) vizsgáltuk.

Azt találtuk, hogy:

1. A késési idők általában lineáris összefüggést mutatnak a szinapszisok dendritek mentén mért távolságaival (pathdistance),
2. Azonban találtunk a dendritfán belül olyan régiókat, ahol a sejttesttől azonos távolságokban lévő szinapszisok által generált PSP-ok lényegesen különböző késési idővel jutnak el a szómára.

3. Az idő intervallum, amelyen belül a propriospinalis szinapszisok által generált PSP-ok effektíven szummálódnak a szómán sokkal kisebb (~ 9ms) a távoli propriospinalis szinapszisokat fogadó motoneuronban, mint a szómához közeli szinapszisok esetében (~ 16 ms).

A téma kidolgozása során kapott eredményeinket több hazai és nemzetközi kongresszuson bemutattuk. Jelenleg az elektronmikroszkópos vizsgálatokkal azonosítjuk egy nagy EPSP-t kialakító sejten a propriospinalis szinapszisokat. A modellkísérleteket az EM vizsgálatok adataival kiegészítve kívánjuk eredményeinket cikk formájában közölni.

## 2. A gerincvelői ritmusgeneráló neuronhálózat vizsgálata a *Xenopus* embrióban

Egy angol munkacsoporttal (School of Biological Sciences, University of Bristol, UK) közösen vizsgáltuk a *Xenopus* embrió (37/38 fejlődési stádium) úszómozgásért felelős központi ritmusgeneráló hálózatát. Olyan kérdéseket tanulmányoztunk számítógépes modellekben, amelyek fiziológiai kísérletekben direkt módon nem vizsgálhatók.

Modellünkben három neuron típus szerepel:

1. *Motoneuronok*, melyek acetilkolin szinapszisokat adnak az azonos oldali motoneuronokra és premotor interneuronokra. A modellkísérletek egy részében az ugyanazon gerincvelői szegmentumban lévő azonos oldali motoneuronok közötti elektromos szinapszisokat is modelleztünk.
2. A főleg leszálló axonokkal rendelkező és ipsilaterális interneuronokkal és motoneuronokkal glutamat szinapszisokat képező *interneuronok*.
3. *Commissuralis interneuronok* melyek a gerincvelő ellenoldalára átkereszteződő axonjaik révén glicinerg szinapszisokat képeznek a contralateralis oldal neuronjaival.

Az embrió agytörzsét és a gerincvelőt modelleztük az experimentálisan talált neuron eloszlásokkal, axon hosszakkal és szinaptikus kapcsolatokkal. Populációs modellünk a fenti neuron típusokból több százat tartalmazott így a szinapszisok száma tízezres nagyságrendű volt.

Az úszómozgás létrejöttéhez a törzs izmait beidegző és a gerincvelő két oldalán elhelyezkedő motoneuronok alternáló aktivitása (*bilaterális koordináció*) mellett az is szükséges, hogy a gerincvelő hossza mentén különböző helyzetű motoneuronok kisülése között megfelelő rostro-caudalis késés is legyen (*longitudinalis koordináció*). Az egy szegmentumhoz tartozó izmok hatékony kontrakciójához mindezek mellett az is szükséges,

hogy az őket beidegző motoneuronok bizonyos szinkronitást mutassanak a kisülésükben (*intrasegmentalis koordináció*). Megvizsgáltuk, hogy a neuronok membrán tulajdonságai mennyire játszanak lényeges szerepet az úszásnak megfelelő aktivitás kialakításában. Eredményeink azt mutatják, hogy az úszómozgás kialakításához és fenntartásához szükséges koordinációs mechanizmusok nagymértékben érzéketlenek az egyedi neuronok celluláris tulajdonságaira és elsősorban a neuronok által fogadott szinaptikus kapcsolatok erősségében meglévő különbségekből adódnak.

Ezt követően modellünket alkalmaztuk egy kísérletes eredmény interpretálására. Angol partnerünk páros patch elektródákkal történt vizsgálataiból kiderült, hogy az embrió utóagy – gerincvelő határán olyan agytörzsi serkentő neuronok találhatóak, amelyek monoszynaptikus kapcsolatban vannak egymással, és ez a pozitív visszacsatolás növelheti az úszási epizód hosszát. Hipotézisünk az alábbi kísérletes eredményeken alapszik: A) Az embrió agyának nagy része eltávolítható anélkül, hogy az úszási epizód hossza lényegesen változna, feltéve, ha az utóagy megmarad. B) Ha az utóagyat is leválasztjuk a gerincvelőről akkor az úszási epizód hossza jelentősen lecsökken; mindössze néhány másodperc. C) Az úszási epizód hossza azonban nem változik ha az utóagy – gerincvelő határán csak egy mindössze néhány száz mikrométer hosszú preparátumot vizsgálunk, vagyis a gerincvelő nagy részét is eltávolítjuk. Elképzeléseink szerint az úszásért felelős központi ritmusgeneráló hálózat a gerincvelőben található, azonban azok a neuronok, melyek hosszabb ideig képesek a gerincvelői aktivitást fenntartani az agytörzs caudalis részén vannak és képesek a *rövid stimulusra* létrejövő *úszómozgás* *hosszú ideig* történő fenntartására.

Modellünkben azt vizsgáltuk, hogy fenti hipotézisünket a neuronhálózat számítógépes modellje megerősíti-e. Az utóagy – gerincvelő határát modelleztük kétféleképpen; az egyik esetben az agytörzsi neuronok rendelkeztek, a másikban pedig nem rendelkeztek felszálló axonokkal. Azt kaptuk, hogy amikor a neuronoknak mind fel, mind leszálló axonjai voltak (ahogy azt kísérletesen találtuk) akkor az úszásra jellemző neuronális aktivitás sokáig fennmaradt. Abban az esetben, amikor a neuronoknak csak leszálló axonjaik voltak a modellben (vagyis amikor a pozitív visszacsatolás lehetőségét az agytörzsi neuronok között kizártuk) akkor az epizód hossza lecsökkent és a kísérletekkel összhangban mindössze néhány másodperc volt.

Eredményeink közlés alatt vannak a Journal of Neuroscience folyóiratban.



### **3. Cinket tartalmazó neuronok szerepe az emlős gerincvelő ritmusgeneráló neuronhálózataiban**

Korábbi kísérleteink eredményei (Birinyi és mtsai. J. Comp. Neurol. 433. 208-221. 2001) azt jelezték, hogy a cink szerepe a gerincvelőben eltér attól, amit az agykérgi neuronhálózatokban leírtak. Míg az emlős agykéregben a cink kizárólag a glutamátot tartalmazó végződésekben fejt ki hatását, az orsóhal gerincvelőben a cink csak a gátló axon terminálisokban fordult elő. Elvégzett kísérleteinkben ezért vizsgáltuk a cinket tartalmazó terminálisok eloszlását az emlős gerincvelőben és kolokalizációját gátló neurotranszmitterekkel.

A terminálisok feltérképezésére a patkány lumbosacralis gerincvelői metszeteken a Timm által kidolgozott szulfid-ezüst festés Danscher által módosított változatát használtuk. Fénymikroszkópos szinten a cinket tartalmazó terminálisok nagy számban fordultak elő a gerincvelő dorsalis szarvának felszínes területein (I. és III. lamina) és a canalis centralis környékén de szétszórtan megjelentek a ventralis szarvban a motoneuronok környezetében is. A cinket tartalmazó gerincvelői terminálisok neurokémiai jellemzésére ultravékony sorozatmetszeteket készítettünk a dorsalis szarvból és posztembedding immunhisztokémiai módszerekkel vizsgáltuk a cink tartalmú terminálisok neurotranszmittereit GABA és glicin ellen termeltetett antitestek segítségével. Az általunk tanulmányozott 105 cinket tartalmazó terminálisból 70 esetben találtunk gátló aminosavat. Ezen terminálisok 60%-ában mind a GABA mind a glicin jelen volt, a terminálisok 26%-a csak GABA-t, míg 9%-a csak glicint tartalmazott. A cink tartalmú terminálisok 30%-ában nem tudtunk kimutatni gátló aminosavakat. A vezikuláris cink transzporter fehérje ellen termeltetett antitesttel (ZnT-3) elvégzett immunhisztokémiai reakció után a gerincvelőben a jelölt terminálisok eloszlása azonos volt a Timm módszerrel kimutatott zinc tartalmú terminálisok eloszlásával, így igazoltuk, hogy a jelölt terminálisok valóban cinket tartalmaznak.

Eredményeink azt mutatják, hogy a gerincvelőben a cinket tartalmazó végződések mintegy kétharmada gátló karakterű és a terminálisok kétharmadában mindkét gátló neurotranszmitter előfordul. Ugyanakkor az emlős gerincvelőben nagy számban találtunk olyan cinket tartalmazó axon végződéseket is, amelyekben nem tudtunk gátló aminosavat kimutatni. Adataink arra utalnak, hogy ellentétben az orsóhal gerincvelőben kapott korábbi

eredményekkel az emlős gerincvelőben a cink mind a serkentő mind a gátló működést képes befolyásolni.

Az elvégzett morfológiai vizsgálatok eredményeiből elkészült egy kézirat (ezt jelentésemhez mellékeltem), amelyet a svédországi partner által elvégzett fiziológiai vizsgálatok eredményeivel szeretnénk kiegészíteni és a Neuroscience folyóiratban közölni. Sajnos a fiziológiai kísérletek a laboratórium átszervezése illetve a kísérletek végző munkatárs távozása miatt lassan haladnak, ezért a kollaborációs partnerrel egyeztetve elkezdtek egy másik, elsősorban morfológiai munkákra alapozott téma kidolgozását.

#### **4. Commissuralis interneuronok eloszlása, morfológiája, neurokémiai sajátosságai és szinaptikus kapcsolatai patkány lumbalis gerincvelőben**

A stockholmi kollaborációs partnerünk laboratóriumában elvégzett fiziológiai kísérletek alapján feltételezték, hogy patkányokban a központi ritmusgeneráló hálózat (CPG) sejtjei a gerincvelő szürkeállományának ventromedialis területében található. Munkánk során a ritmus kialakításában részt vevő sejtek egy csoportját a commissuralis interneuronokat vizsgáltuk. Ezeknek a neuronoknak az axonjai a ventralis commissurában keresztezik a középvonalat és az ellenoldali szürkeállományban végződnek, így fontos szerepet játszanak a jobb- és baloldali végtagok mozgásának összehangolásában.

A sejtek feltüntetésére biotinizált dextrans amint injektáltunk a gerincvelő szürkeállományának ventromedialis területébe, majd az injekcióval ellentétes oldalon a motoneuronokat a ventralis gyökerekben haladó axonjaikon keresztül biocytinnel feltöltöttük. Az elemzéshez azokat a metszeteket használtuk, amelyekben mind a commissuralis interneuronok mind a motoneuronok sejttestjei illetve dendritjei jól jelölődtek. Ilyen esetben az injekciók helyéről a commissuralis axonok átjutottak a gerincvelő injekcióval ellentétes oldalára, ahol az axonok egy részét egészen a IX-es lamináig követni lehetett. Itt szoros összefekvéseket láttunk az axonok terminálisai és a jelölt motoneuronok sejttestjei illetve proximalis dendritjei között. Összesen 632 különböző szegmentumban elhelyezkedő motoneuront vizsgáltunk és ezek közül 291 neuronon találtunk fénymikroszkóppal szoros appozíciót. Az egyes sejtek 1-3 kapcsolatot fogadtak a contralateralis commissuralis interneuronoktól. A ventromedialis injekcióval megjelöltük azon contralateralis commissuralis interneuronokat is, amelyek axonjai az injekciós területben végződtek. Ezeket a neuronokat átvizsgálva a sejtek felén találtunk szoros összefekvéseket az anterográd módon jelölődött commissuralis interneuron axon terminálisokkal.

A commissuralis interneuronok neurokémiai vizsgálatához a gerincvelő ventromedialis területére történt BDA injekciót követően a jelölt axon terminálisok neurotranszmitter tartalmát vesicularis glutamát transzporter ellen termeltetett antitesttel (VGLUT1, 2), glicin transzporter fehérje elleni antitesttel (GLYT2), illetve GAD65/67 elleni antitesttel határoztuk meg, amelyeket különböző hullámhosszokon gerjeszhető fluorescens jelölőanyagokkal (Alexa Fluor 488, 546, 647) tettünk láthatóvá és konfokális mikroszkóppal vizsgáltunk. Az azonosított 1146 BDA-val jelölt commissuralis interneuron terminálisnak valamivel több mint fele (58%) tartalmazott gátló aminosavat. Ezen gátló terminálisok felében kizárólag glicin, egynegyedében csak GABA fordult elő, míg közelítőleg egyharmaduk mindkét gátló aminosavat tartalmazta. A glutamátot tartalmazó serkentő terminálisok aránya 27% volt. Eredményeink azt mutatják, hogy az alacsonyabb rendű gerincesekkel ellentétben az emlős gerincvelőben a commissuralis interneuron terminálisoknak csak 45-68 %-a gátló karakterű és jelentős számban vannak jelen glutamátot használó serkentő axon végződéses is.

A témából megjelent egy cikk a „The Journal of Comparative Neurology” újságban illetve készül egy kézirat, amelyet a jelentéshez mellékeltem.