

A. TRZEBSKI

O DZIAŁANIU NEUROHORMONÓW W ŚWIETLE TEORII CHEMICZNEGO PRZEKAZYWANIA IMPULSU W SYNAPSACH CENTRALNYCH *

Z Zakładu Fizjologii Człowieka A. M. w Warszawie
Kier. prof. dr *Fr. Czubalski*

Wzrastająca stale liczba nowych poznawanych czynników neurohumoralnych, a także syntetycznych związków psychotomimetycznych i psychoterapeutycznych i konieczność wyjaśnienia ich ośrodkowego działania stawia badacza wobec trudnego problemu przewodnictwa międzyneuronowego w synapsach centralnych. Problem ten ostatnimi laty znalazł się w centrum zainteresowania szeregu ośrodków badawczych zarówno fizjologicznych, jak i neurofarmakologicznych. Możliwości metodyczne bezpośrednich doświadczeń zarysowały się tu dopiero w ostatnim czasie w przeciwieństwie do badań nad synapsami obwodowymi, gdzie w ciągu prawie 40-letniego okresu od czasu klasycznych doświadczeń *Loewiego* nagromadzono poważny materiał doświadczalny uzasadniający i precyzujący chemiczny mechanizm przewodnictwa.

Przełom nastąpił z chwilą wprowadzenia przez szkołę australijską techniki mikroelektrod jako metody badań potencjałów pojedynczej komórki nerwowej *in situ* (*Brock, Coombs, Eccles* 1952, 1953). Faktem o znaczeniu podstawowym było wykrycie nowego zjawiska elektrycznego komórki nerwowej — potencjałów postsynaptycznych jako sumy prepotencjałów. Potencjały postsynaptyczne i potencjały iglicowe ciała komórki nerwowej wykazują różnice zasadnicze.

Zgodnie z badaniami *Hodgkina* i *Katza* (1949), *Hodgkina* i *Huxleya* (1952) na wielkich aksonach sepii i kałamarnicy (*Loligo*) potencjał iglicowy stanowi proces autoregulowany, w wyniku którego przywrócona zostaje zachwiana chwilowo równowaga elektrochemiczna z obu stron błony komórkowej. Proces ten zapoczątkowany zostaje wybiórczym zwiększeniem

* Referat wygłoszony został na Polsko-czechosłowackim Sympozjum poświęconym neurohormonom, w Zakopanem 18. X. 1958 r.

przepuszczalności błony komórkowej dla sodu z penetracją tego jonu (w ilości $5-10 \times 10^{-15}$ równoważ. dla motoneuronu, Eccles 1957) do wnętrza komórki zgodnie z istniejącym gradientem elektrochemicznym

$$\frac{\text{Na zewnątrz kom.} \approx 150 \text{ m M} \approx}{\text{Na wewnątrz kom.} \approx 15 \text{ m M} \approx} = 10,$$

z tendencją do osiągnięcia potencjału równowagi dla sodu rzędu ok. + 60 mV wnętrza. Odpowiada temu raptowny wzrost potencjału wewnątrzkomórkowego powyżej potencjału powierzchni błony (*overshoot*). W drugiej fazie dochodzi do równoważnego ilościowo ruchu jonów K⁺ na zewnątrz błony zgodnie z gradientem elektrochemicznym

$$\frac{\text{K wewnątrz kom.} \approx 150 \text{ m M} \approx 27}{\text{K zewnątrz kom.} \approx 5,5 \text{ m M} \approx 27}$$

z tendencją do uzyskania potencjału równowagi dla potasu ok. — 90 mV wnętrza. Procesowi temu odpowiada drugie ramię potencjału iglicowego: spadek przy odprowadzeniach wewnątrzkomórkowych lub wzrost przy odprowadzeniach zewnątrzkomórkowych. Badania Coombsa, Ecclesa i Fatta (1955) wykazały, że wyniki uzyskane na wielkich aksonach kałamarnicy (*Loligo*) odnoszą się w pełni do motoneuronu z jedną tylko różnicą. Wzrost przepuszczalności dla potasu w drugiej fazie potencjału iglicowego okazał się w jakiś sposób swoiście uzależniony od uprzedniej zmiany przepuszczalności błony komórkowej dla sodu, ponieważ, w przeciwieństwie do wielkich aksonów *Loligo*, sama depolaryzacja nie zmienia przewodnictwa błony komórkowej motoneuronu ($1,2 \times 10^{-6}$ m hos). Procesy egzoergiczne wewnątrzkomórkowe, określane zbiorowym terminem pompy sodowo-potasowej (Keynes 1951, Hodgkin, Keynes 1955), wykonują pracę osmotyczną, osiągając maksimum wydajności 10×10^{-6} mola Na wypompowanego z motoneuronu w ciągu minuty (Eccles 1957), dzięki czemu przywracają wyjściowy gradient elektrochemiczny. Potencjał iglicowy ma charakter procesu eksplozywnego i w zwykłych warunkach zachodzi wg typu reakcji „wszystko albo nic”.

Potencjały postsynaptyczne zapisywane z wnętrza komórki są kilkudziesięciokrotnie mniejsze od potencjału iglicowego i w przypadku motoneuronu nie mogą w formie izolowanej przekroczyć 10 mV, ponieważ stanowi to próg pobudliwości dla błony komórkowej najbardziej pobudliwego początkowego odcinka aksonu (Eccles 1957), lub dla samego ciała komórki (Fatt 1957) i oznacza moment wyzwolenia potencjału iglicowego. W przeciwieństwie do potencjału iglicowego, charakteryzującego się tylko jednym kierunkiem zmian potencjału (ujemno-dodatnim dla odprowadzeń zewnątrzkomórkowych lub dodatnio-ujemnym — dla wewnątrzkomórkowych), potencjały postsynaptyczne występują w 2 zwierciadlanych formach: jako potencjał postsynaptyczny pobudzeniowy (EPSP), polegający na depola-

ryzacji błony komórkowej w ciągu ok. 4–7 msek. i jako potencjał post-synaptyczny hamulcowy (IPSP), polegający na przejściowym wzroście polaryzacji błony w ciągu ok. 3 msek. Potencjał postsynaptyczny pobudzeniowy motoneuronu powstaje w ok. 0,5 msek. po dotarciu salwy impulsów do rdzenia kręgowego z włókien dośrodkowych grupy Ia tegoż mięśnia lub mięśni synergistycznych. Potencjał postsynaptyczny hamulcowy powstaje w ok. 1,25–1,5 msek. po dotarciu salwy impulsów wywołujących tzw. hamowanie bezpośrednie w wyniku zadrażnienia włókien dośrodkowych grupy Ia mięśni antagonistów (Brock, Coombs, Eccles 1952), Coombs, Curtis, Eccles 1955 b). W ten sposób w zjawisku hiperpolaryzacji wykryto mikroelektrofizjologiczny odpowiednik stanu hamowania komórki. Pojawianie się hiperpolaryzacji wykazano także w komórkach piramidowych kory mózgowej (Albe-Fessard i Buser 1953, 1955, Phillips 1956), w komórkach węzła zatokowego serca pod wpływem drażnienia nerwu błędnego i acetylocholino, doprowadzonej lokalnie na drodze mikrojontoforezy (del Castillo, Katz 1955, Hutter, Trautwein 1956), jak również w komórkach wydzielniczych ślinianek pod wpływem acetylocholino i adrenaliny (Lundberg 1955) oraz w komórkach olbrzymich niektórych bezkręgowców, a także w komórce receptora rozciągania raka (cray, — fish stretch receptor — Kuffler, Eyzaguirre, 1955). Wydaje się prawdopodobne, że oba te odmienne procesy elektrogenetyki komórkowej ujemnej i dodatniej zapoczątkowane zostają w osobnych strukturach synaptycznych pobudzeniowych i hamulcowych (Eccles 1953, 1957), jakkolwiek nie ma dotąd na to bezpośredniego dowodu. Tym niemniej hipoteza osobnych synaps pobudzeniowych i hamulcowych (Sherrington 1906) pozwala na logiczne wytłumaczenie podstawowych faktów z zakresu fizjologii rdzenia kręgowego i może być wykorzystana również do interpretacji bardziej złożonych zjawisk neurofizjologicznych (Kornorski 1948).

Z punktu widzenia teorii przewodnictwa międzyneuronowego szczególnie ważne są następujące cechy potencjałów postsynaptycznych: powstają one po dotarciu impulsu do błony presynaptycznej, szerzą się z dekrementem, nie odpowiadają zależności „wszystko albo nic”, sumują się albo znoszą w przypadku jednoczesnego pojawiania się potencjału postsynaptycznego ujemnego (EPSP) i dodatniego (IPSP) lub jeśli IPSP poprzedza nieco EPSP.

Badania Ecclesa i współpr. (Eccles, Fatt, Koketsu 1954, Coombs, Eccles, Fatt 1955), kojarzące technikę mikroodprowadzeń, mikrodrażeń i mikroelektroforezy dostarczyły podstaw do hipotezy o „sitowym” modelu błony komórkowej (Eccles 1957). Potencjał postsynaptyczny pobudzeniowy powstaje w rezultacie wzrostu przepuszczalności błony postsynaptycznej dla wszystkich rodzajów jonów (duże „oczka sieci”). W rezultacie wytwarza

się miejscowe „krótkie spięcie” z tendencją do osiągnięcia potencjału równowagi elektrochemicznej z obu stron błony komórkowej. Innymi słowy zachodzi miejscowa depolaryzacja błony postsynaptycznej z powstaniem prądu skierowanego do wnętrza komórki. Potencjał postsynaptyczny hamulcowy powodowany byłby wybiórczym zwiększeniem przepuszczalności błony postsynaptycznej tylko dla małych, słabo uwodnionych jonów (małe „oczka”); praktycznie w grę wchodzi Cl^- i K^+ . W efekcie następuje przesunięcie obu tych jonów zgodnie z gradientem elektrochemicznym. Jony Cl^- penetrują do wnętrza komórki, obniżając potencjał wnętrza. Jony K^+ , o potencjale równowagi ok. — 90 mV wnętrza, utrzymują się w komórce niepobudzonej w stężeniu wyższym od stężenia równowagi na koszt pompy potasowo-sodowej, dzięki czemu potencjał wnętrza komórki wynosi tylko ok. — 70 mV (dla motoneuronu). Z chwilą wzrostu przewodnictwa błony następuje ruch jonów K^+ na zewnątrz zgodnie z gradientem elektrochemicznym. Sztucznie utrzymywana różnica ok. 20 mV między potencjałem wnętrza i potencjałem równowagi dla jonów K^+ zanika. Ruch jonów potasu zmierza do potencjału równowagi, tzn. do obniżenia potencjału wnętrza i hiperpolaryzacji (Eccles 1957).

Badania del Castillo i Katza (1954) nad synapsami obwodowymi w mięśniach szkieletowych wykazały, że obie główne formy aktywności elektrycznej komórki: potencjały postsynaptyczne i potencjały iglicowe — powstają w różnych strukturach. Potencjały zapoczątkowane zostają w okolicach błony komórkowej, zakończonych w bezpośrednim sąsiedztwie kolbkowatych zakończeń włókien postsynaptycznych. Te właśnie okolice określane są jako błona postsynaptyczna. Istnieje szereg poważnych argumentów na rzecz poglądu, że błona postsynaptyczna nie jest wrażliwa na sztuczne bodźce elektryczne, a jedynie na bodźce naturalne ortodromiczne lub na czynniki chemiczne (Grundfest 1957).

Potencjały iglicowe natomiast powstają na pozasynaptycznych obszarach błony komórkowej, wrażliwych jedynie na bodźce elektryczne, nie zaś na chemiczne (Grundfest 1957).

W warunkach naturalnych wyładowanie czynnościowe motoneuronu następuje z chwilą, gdy wypadkowa potencjałów postsynaptycznych przekroczy próg pobudliwości najbardziej pobudliwego odcinka błony pozasynaptycznej, początkowego niezmielinizowanego odcinka aksonu (Eccles 1957). Potencjał iglicowy odcinka początkowo (próg pobudliwości 10 mV) staje się z kolei bodźcem elektrycznym, wystarczającym do uruchomienia potencjału iglicowego motoneuronu. Analiza mikroelektrofizjologiczna wyładowania motoneuronu dokonana przez Fatta (1957) techniką zapisu elektrycznie różniczkowego przemawia za tym, że pierwszy potencjał iglicowy (progowy) odnosi się do całego ciała komórki, drugi (próg ok. 30 mV) do

dendrytów. Na wypadkową potencjałów, warunkującą wyładowanie lub stan hamowania komórki składa się zespół potencjałów postsynaptycznych pobudzeniowych i hamulcowych o każdorazowo zmiennym natężeniu, konfiguracji przestrzennej i wzajemnym stosunku siłowym.

Jakimi argumentami rozporządza chemiczna teoria przewodnictwa międzyneuronowego (*Eccles 1957*)?

1. Teoria elektryczna nie może objaśnić hiperpolaryzacji komórki nerwowej pod wpływem salwy impulsów hamulcowych.

2. W świetle teorii elektrycznej niepojęty jest fakt, że zmieniając sztucznie polaryzację błony komórkowej, można zmienić lub nawet odwrócić kierunek potencjału postsynaptycznego. Fakt ten łatwo wytłumaczyć, znając potencjał równowagi dla potencjału hamulcowego i pobudzeniowego przy założeniu, że u podstaw zjawiska leży zmiana przewodnictwa błony komórkowej dla wszystkich jonów (EPSP) lub tylko dla Cl^- i K^+ (IPSP).

3. Jednoczesny zapis mikroelektrodami potencjału iglicowego presynaptycznego i potencjału postsynaptycznego wykazuje, że początek zmian postsynaptycznych rozpoczyna się już po przeminieciu szczytu potencjału presynaptycznego. Okresowi szczytu we włóknie presynaptycznym nie odpowiada żadna uchwytna zmiana elektryczna błony postsynaptycznej (*Brock, Coombs, Eccles 1952*).

4. Pobudzeniowy potencjał postsynaptyczny przy pojemności błony komórki $3 \times 10^{-9}\text{F}$ i oporze całkowitym $0,8\text{M}\Omega$ (dla motoneuronu) wymaga prądu depolaryzacyjnego rzędu 10^{-7}A . Tymczasem całkowity prąd na przeżęciu Ranviera włókna rdzeniowego grupy Ia nie przekracza $2 \times 10^{-9}\text{A}$ (*Huxley, Stämpfli 1949, Tasaki 1953*), tzn. jest około 50 razy mniejszy niż prąd faktycznie działający na błonie postsynaptycznej (*Eccles 1957*).

5. Czas trwania pobudzeniowego potencjału postsynaptycznego (4–7 msek.) jest znacznie dłuższy niż stała czasu błony komórkowej motoneuronu $\tau \approx 3,1$ msek. (*Eccles 1957*). W przypadku oddziaływania elektrycznego czas trwania pobudzeniowego potencjału postsynaptycznego zdeterminowany byłby naturalnie li tylko elektrycznymi właściwościami błony komórkowej. Argument ten nie dotyczy dendrytów, które posiadają dłuższą stałą czasu ok. 4 msek. (*Fatt 1957*).

W świetle całokształtu przedstawionych faktów zdaje się być dobrze uzasadniony wniosek, że depolaryzacja błony postsynaptycznej dochodzi do skutku poprzez miejscowe i chwilowe zadziałanie jakiegoś czynnika chemicznego zmieniającego przewodnictwo błony postsynaptycznej. Z mechanizmem takim nie stoi w sprzeczności struktura synapsy, poznana ostatnio lepiej dzięki badaniom przy użyciu mikroskopu elektronowego (*Palade, Palay 1954, de Robertis, Bennet 1955*). Kolbkowate zgrubienie włókna presynaptycznego oddzielone jest od błony postsynaptycznej motoneuronu oraz innych komórek szczeliną o szerokości ok. 200 Å. Szerokość szczeliny

synaptycznej jest dostatecznie mała, aby zapewnić możliwie szybkie zeknięcie się mediatora, wyzwolonego z zakończenia presynaptycznego, z błoną postsynaptyczną. Przy założeniu, że mediatorem jest acetylocholina, czas dyfuzji wynosić będzie zaledwie około 1 mikrosekundy (Eccles 1957). Z drugiej strony szerokość szczeliny synaptycznej jest na tyle znaczna, że prąd postsynaptyczny, powstający w wyniku lokalnej depolaryzacji lub hiperpolaryzacji, nie natrafia na poważniejszy opór, przepływając od lub do obszarów sąsiednich. Przy założeniu, że opór właściwy środowiska w szczelinie synaptycznej wynosi $100 \Omega \text{cm}$ a rozmiary zgrubienia kolbkowatego ok. 2 mikrony — opór przy przepływie prądu przez szczelinę nie przekracza 3% oporu przy przepływie przez samą błonę postsynaptyczną, posiadającą przewodnictwo rzędu 10^{-6} mhos , Castillo, Katz 1954, Eccles 1957). Pewną trudność w interpretacji działania hipotetycznego mediatora stanowi fakt, że czas trwania czynności przekazywania impulsu jest różny w różnych synapsach pod wpływem tej samej pojedynczej salwy impulsów wysyłanej po tych samych włóknach dośrodkowych. I tak np. pojedyncza salwa, wysyłana po włóknach dośrodkowych grupy Ia, powoduje pojedyncze wyładowania motoneuronu i komórek słupów Clarka (Laporte, Lundberg, Oscarsson 1956) oraz wielokrotnie wytwarzające się wyładowania komórek jądra pośredniego Cajala (Eccles, Fatt, Landgren 1956). Szczególnie długo utrzymuje się działanie mediatora w komórkach Renshaw na tle ezeryny: tu pojedyncza salwa impulsów wyzwala szereg wyładowań utrzymujących się ok. 3 sekundy (Eccles, Eccles, Fatt 1956). Jeżeli uwzględnić przeciętne rozmiary synapsy i współczynnik dyfuzji mediatora (przyjęty za równy acetylocholinie), wówczas już po ok. 1 msec. stężenie jednorazowego wyzwolonego mediatora powinno spaść do wartości znikomych (Ogston 1955). Dla rozwiązania tej sprzeczności między teorią i doświadczeniem, Eccles Curtis, Eccles 1958 przyjmuje istnienie bariery dyfuzyjnej wokół szczeliny synaptycznej. Bariera dyfuzyjna utrudniałaby rozpraszanie mediatora poza okolicę błony postsynaptycznej. Nie ma dotąd morfologicznego dowodu istnienia takiej bariery, chociaż pewne struktury podwójnej błony komórkowej aksonu obserwowane w mikroskopie elektronowym (Robertson 1956, 1957) mogą rzucać światło na to zagadnienie od strony morfologicznej.

Nic pewnego nie wiadomo dotąd o mechanizmie wyzwalania hipotetycznego mediatora z zakończeń presynaptycznych w neuronach centralnych. Można snuć tylko przypuszczenia w oparciu o dane, odnoszące się do synaps obwodowych. Być może mediator dostarczany jest do zakończeń z ciała komórki, przesuwaną się wzdłuż aksonu (Zawadzki 1946, 1955). Trudnością dla tej koncepcji jest raptowne wyzwalanie się mediatora w zakończeniach presynaptycznych. Aby ominąć tę trudność, należało

przyjąć mechanizm dyfuzji przyspieszonej van den Honerta wzdłuż włókna nerwowego (Zawadzki 1946, 1955). Przypuszczalnie zbiornikami mediatora w zakończeniu presynaptycznym są niewielkie pęcherzyki o przekroju ok. 30 Å, widoczne w mikroskopie elektronowym (Palade, Palay 1954). Eccles (1957) przyjmuje, że mediator wyzwany jest z zakończenia stale małymi porcjami wskutek pęknięcia poszczególnych pęcherzyków (*quantal mechanism*). Procesowi temu odpowiadałyby nieregularnie pojawiające się mikropotencjały płytki ruchowej (del Castillo, Katz 1955). Depolaryzacja zakończenia presynaptycznego, przy prawidłowym stosunku Ca/Mg w otaczającym środowisku, przyspiesza proces, synchronizuje pęknięcie poszczególnych pęcherzyków i prowadzi do szybkiego gromadzenia się mediatora w szczelinie synaptycznej. Jedyna znana do tej pory substancja ingeruje w opisany mechanizm. Jest to toksyna jadu kiełbasianego blokująca proces wyzwania acetylocholinoz z zakończeń nerwowych i blokująca zarazem przewodnictwo w synapsach centralnych na komórkach Renshaw rdzenia kręgowego (Brooks, Curtis, Eccles 1957).

Hipoteza, że na czynniki chemiczne wrażliwy jest pewien fragment błony komórkowej, błona postsynaptyczna, pociąga za sobą daleko idące konsekwencje. W świetle tej hipotezy ośrodkowe działanie czynników neurohumoralnych, a także szeregu związków czynnych synaptycznie sprowadzić można do procesów rozgrywających się w błonie postsynaptycznej. Tak więc czynniki neurohumoralne mogą nasilać lub osłabiać jedno z 2 możliwych przesunięć jonowych, warunkujących albo proces elektrogeny dodatniej — elektrofizjologiczny obraz hamowania komórki, albo proces elektrogeny ujemnej, odpowiadający stanowi pobudzenia komórki. Szybki rozwój badań nad związkami aktywnymi w stosunku do synapsy datuje się od chwili, gdy w ręce badaczy dana została prosta metoda wywoływania i zapisu potencjałów postsynaptycznych nie wymagająca uciążliwej techniki mikroelektrod. Metodą tą stała się analiza ujemnej fali potencjałów wywołanych kory mózgowej. Zmiany elektryczne określonego punktu powierzchni kory mózgowej pod wpływem podrażnienia odpowiednich receptorów na obwodzie włókien dośrodkowych czy też samej kory homo- lub heterolateralnie zarejestrowane po raz pierwszy w pionierskiej pracy Becka okazały się (ich fala ujemna) sumą algebraiczną potencjałów postsynaptycznych pobudzeniowych i hamulcowych synaps aksodendrytycznych skupionych na dendrytach powierzchownej warstwy kory mózgowej (Beritow 1955, Purpura, Grundfest 1956 oraz wcześniejsze badania Changa 1951 i Bishopa 1955, które dostarczyły pierwszych przesłanek dla tego wniosku). Związki czynne w stosunku do synapsy nakropłone na powierzchnię kory mózgowej (Purpura, Grundfest 1957), wstrzykiwane do tętnicy szyjnej wspólnej w kierunku domózgowym (Marazzi

1953, 1955) lub do komór bocznych (*Feldberg, Sherwood 1954, 1955*) mogą powiększać ujemną falę potencjału wywołanego blokując synapsy hiperpolaryzacyjne hamulcowe (np. strychnina, *Purpura, Grundfest 1956, 1957*) lub obniżać ją, a nawet odwracać na falę dodatnią, jeśli blokują synapsy depolaryzacyjne pobudzeniowe, odsłaniając zamaskowany proces elektrogenезы dodatniej (np. kwas γ -aminomasłowy, β -alanina i niższe ω -amino-kwasy, *Purpura, Girado i wsp. 1959*). D-tubokuraryna stosowana miejscowo blokuje nieswoiście oba typy synaps (*Purpura, Grundfest 1956*).

Analiza zmian potencjałów wywołanych z powierzchni kory mózdzku prowadzi do wniosku (*Purpura, Grundfest 1957*), że nie ma tam prawie powierzchniowych synaps hiperpolaryzacyjnych. Stwarza to z kory mózdzku wygodny substrat dla różnicowania efektów zależnych od działania na synapsy depolaryzacyjne lub hiperpolaryzacyjne. Podział związków czynnych na hiperpolaryzujące i depolaryzujące stanowi użyteczny, ale uproszczony schemat rzeczywistych stosunków. Wiele faktów nie mieści się w jego ramach. Acetylocholina np. jest czynnikiem depolaryzującym w synapsach zwojowych i w zakończeniach ruchowych, lecz hiperpolaryzującym dla komórek węzła zatokowego serca (*Hutter i Trautwein 1956*). Adrenalina hamuje przekazywanie impulsu w synapsach zwojowych, nie powodując hiperpolaryzacji (*Lundberg 1952*). Niektóre komórki gruczołu ślinowego wykazują tylko depolaryzację lub hiperpolaryzację pod wpływem obu mediatorów — acetylocholiny i adrenaliny (*Lundberg 1955*). Strychnina blokuje nie tylko proces hiperpolaryzujący (*Eccles, Fatt, Koketsu 1954, Purpura, Grundfest 1957*), lecz w mniejszym stopniu i depolaryzację. Podobnie d-tubokuraryna w obecności heparyny (*Purpura, Grundfest 1956*) lub po podaniu do komory bocznej nie blokuje, lecz wzmaga ujemną falę potencjałów wywołanych kory mózgowej (*Feldberg 1956*). Te sprzeczności dowodzą, że poszukiwanie neurohormonu — mediatora w synapsach centralnych nie może opierać się na faktach zebranych przy badaniu jednej grupy komórek i musi uwzględniać różnorodność typów neuronów i warunków doświadczalnych.

Aby można było uznać określony czynnik neurohumoralny* za naturalny mediator musi on odpowiadać co najmniej 4 podstawowym warunkom (*Feldberg 1951, Elkes 1957*):

1. Stała obecność w ośrodkowym układzie nerwowym i zmiana lokalnego stężenia w zależności od czynności ośrodków.

* Od czasu pionierskich prac Gutowskiego (1928) nad biodializatami mózgu metody sporządzania wyciągów, a następnie ich oczyszczania i frakcjonowania w oparciu o technikę mikrochromatografii rozwinięta przez *Vogt* uczyniły znaczny postęp. Granica między pojęciami „neurohormon”, „czynnik neurohumoralny”, „ciało czynne” staje się niewyraźna, ponieważ wszystkie sprowadzają się często do wspólnego określonego substratu chemicznego.

2. Dające się wykazać zmiany czynności komórek nerwowych po wprowadzeniu danego czynnika z zewnątrz oraz odpowiednie zmiany pod wpływem jego antymetabolitów.

3. Obecność w układzie nerwowym swoistych układów enzymatycznych syntetyzujących i rozkładających dany czynnik.

4. Dające się wykazać zmiany czynności komórek nerwowych po zablokowaniu inhibitorami odpowiednich układów enzymatycznych.

Punkt 1 i 3 odnoszą się naturalnie nie do całej tkanki mózgowej, lecz jedynie do komórek nerwowych. Większość autorów poszukujących określonych neurohormonów w mózgu operuje jedynie takim rozróżnieniem jak istota biała lub szara nie uwzględniając faktu, że neurohormon znajdować się może w komórkach gleju a także w ścianie naczyń krwionośnych. Przykładem może tu być znaczna zawartość sympatyny w niektórych glejakach (*Bülbring* i współpr. 1956).

Poważne trudności nasuwa punkt drugi. Układ doświadczalny konsekwentny z punktu widzenia teorii przewodnictwa synaptycznego powinien polegać na rejestracji stanu pojedynczej komórki pod wpływem neurohormonu doprowadzonego w odpowiedniej ilości bezpośrednio w pobliże badanej komórki. Tego rodzaju idealny układ doświadczalny został zrealizowany dopiero ostatnio i to na razie tylko w odniesieniu do komórek Renshaw rogów przednich rdzenia kręgowego. *Curtis* i *Eccles* (1958) osiągnęli ten cel dzięki skojarzeniu metody mikroodprowadzeń i mikrojontoforezy acetylocholinoi i szeregu innych związków bezpośrednio w pobliże komórek Renshaw.

Porównanie częstotliwości wyładowań komórek Renshaw przy drażnieniu synaptycznym, po lokalnym doprowadzeniu acetylocholinoi i po wstrzyknięciu acetylocholinoi do zaopatrującej tętnicy doprowadziło ich do wniosku, że komórkę nerwową dzieli podwójna bariera od środowiska wewnętrznego. Pierwszą jest bariera hematoencefaliczna (*Friedman* 1942, *Bakay* 1956, *Mayer, Bain* 1956). Utrudnia ona penetrację z naczyń krwionośnych do tkanki mózgowej szeregu związków nierozpuszczalnych w lipidach, m. in. amin czwartorzędowych, amin biogennych-acetylocholinoi, ardenaliny, serotoniny (*Burgen, Chipman* 1951, *Curtis, Eccles*, 1955, *Costa, Aprisson* 1958) oraz większości aminokwasów. Struktura (*Lajtha* 1958) bariery nie jest poznana dokładnie, prawdopodobnie zbudowana jest z elementów glejowych skupionych wokół ścian kapilarów (*Mayer, Bain* 1956).

Drugą przeszkodą jest omawiana bariera dyfuzyjna, niepokonana nawet przy bezpośrednim doprowadzeniu badanego neurohormonu w pobliże komórki.

Wstrzykiwanie badanych substancji do tętnic zaopatrujących ośrodk (Feldberg i współpr. 1953, *Marazzi* 1953, *Eccles, Koketsu, Fatt* 1954) stwarza możliwość wpływów wtórnych poprzez zadrażnienie odpowiednich

angioreceptorów lub poprzez lokalne zmiany naczyniowe zmniejszającą zapis czynności elektrycznej ośrodka (*Malcolm 1958*).

Rozpowszechniona ostatnio przez *Feldberga* i *Sherwooda* (1954) metoda wprowadzania neurohormonów do płynu mózgowo-rdzeniowego komór bocznych również nie usuwa tych trudności i nie może być uważana za zadowalającą. Neurohormon działa tu na rozległe, bliżej nie określone obszary ośrodkowego układu nerwowego. Niewiele wiadomo z jaką szybkością penetruje wgłąb tkanki mózgowej. Możliwe jest przenikanie badanego związku przez splety naczyniówkowe komór do naczyń mózgowych i wyzwalanie dodatkowych efektów odruchowych. Doświadczenia *Koepchena* i *Loeschke'go* (1956) wykazały, że nowokaina wprowadzona do 3 i 4 komory kół wywołuje gwałtowny spadek ciśnienia i porażenie czynności oddechowej. Efektów tych nie udaje się uzyskać stosując nowokainę bezpośrednio na odsłoniętą powierzchnię grzbietową rdzenia przedłużonego i pnia mózgu. W świetle tych doświadczeń nasuwa się przypuszczenie, że istnieje rodzaj chemorepcji w obrębie wyściółki ścian komór. Zmusza to do ostrożności przy ocenie wyników uzyskanych metodą *Feldberga* i *Sherwooda*, zwłaszcza, że szereg zupełnie różnorodnych związków używanych w ich doświadczeniach wywołuje w zasadzie podobne nieswoiste zmiany w ogólnym zachowaniu się zwierzęcia (oblizywanie się, połykanie, ślinotok, objawy pobudzenia nerwu błędnego, defekacja, a przy większych dawkach unieruchomienie, katatonja aż do śpiączki). Postulatem metodycznym, i to nie tylko w badaniach mikrofizjologicznych, wydaje się dotarcie z neurohormonem w bezpośrednie sąsiedztwo komórki nerwowej badanego ośrodka oraz wprowadzenie do tego samego punktu elektrod drażniących bądź odprowadzających. Postępowanie takie polega na wprowadzeniu do badanego punktu mózgu w aparacie stereotaktycznym cienkiej igły łącznie z elektrodami (*Trzebski 1958*).

W jakim stopniu poszczególne znane neurohormony* odpowiadają sformułowanym wyżej postulatom?

Acetylocholina należy do neurohormonów spełniających wszystkie warunki niezbędne do uznania jej za mediator w pewnych synapsach centralnych. Jest obecna w ośrodkowym układzie nerwowym (*Mac Intosh 1941, Feldberg 1945*), zwłaszcza w korze ruchowej (pole 4 Brodmanna), skąd uwalniana jest w okresie aktywności korowej do przestrzeni międzykomórkowej (*Mac Intosh, Oborin 1953*). Obecna jest w ciele prądkowanym i w jądrze ogoniastym a także w istocie szarej rdzenia kręgowego. Zawartość jej w tkance mózgowej wzrasta w czasie snu i maleje w okresie czuwania (*Richter, Crossland 1949*), wzrasta w narkozie eterowej i barbitu-

* Przegląd niniejszy nie obejmuje problematyki korelacji neurohumoralnej podwzgórzowo-przysadkowej.

rowej i maleje pod wpływem trucizn drgawkowych (*Elliot, Swank, Henderson* 1950).

Rola acetylocholinę jako mediatora wykazana została w sposób szczególnie precyzyjny techniką mikroelektrod i mikroelektroforezy przez *Ecclesia* i współpr. w odniesieniu do komórek Renshaw w rogach przednich rdzenia kręgowego. Acetylocholina może występować jako prawdopodobny mediator w różnych synapsach rdzenia kręgowego, położonych nie tylko na komórkach hamulcowych Renshaw, ale również na innych komórkach pośredniczących prawdopodobnie w przekazywaniu hamowania bezpośredniego i polisynaptycznego (np. jądro pośrednie Cajala, *Eccles* 1957).

Pickford (1947) stwierdziła wzrost wydzielania hormonu antydiuretycznego (ADH) po wstrzyknięciu acetylocholinę lub ezeriny do *nucleus supraopticus* u kota. *Abraham* i *Pickford* (1956) w podobnym układzie doświadczalnym wykazali zwiększone wydzielanie oksytocyny. Doświadczenia te sugerują przekonywająco cholinergiczny charakter synaps oddawanych na neuronach przednioprzyśrodkowych jąder podwzgórza, regulujących czynność tylnego płata przysadki mózgowej.

Szereg danych świadczy o cholinergicznym charakterze niektórych neuronów układu siateczkowego* pnia mózgu oraz kory mózgowej (*Bonnet, Bremer* 1957, *Rinaldi* i *Himwich* 1955, *Longo* 1955, *Longo* i *Silvestrini* 1957, *Bradley* i *Elkes* 1957, *Bradley* i *Mollica* 1958, *Marazzi* 1953), jądra ogoniastego (*Aprison, Nathan, Himwich* 1956, *White* 1956, *White, Himwich* 1957) oraz ośrodków opuszkowych (*White, Himwich* 1956).

Acetylocholina spełnia również pozostałe warunki mediatora. Obecność w mózgu układów enzymatycznych syntetyzujących acetylocholinę, acetylazy cholinowej wykazana została przez *Feldberga* i *Vogt* (1948), a ostatnio potwierdzona przez *Hebb* (1956), która uwzględniła koenzym A w metodyce oznaczania cholinacetylazy. Acetylaza cholinowa rozmieszczona jest w sposób prawidłowy tak, że co drugi neuron (w szlaku wzrokowym i somestetycznym) zawiera ten układ enzymów).

Skupianie się acetylocholinę wraz z odpowiadającymi jej układami enzymatycznymi w układających w pewien prawidłowy sposób ośrodkach stanowi podstawę do daleko wybiegającej hipotezy o cholinergicznym i niecholinergicznym neuronach centralnych przeplatających się nawzajem w pewien uporządkowany sposób (*Feldberg* 1951).

Związki blokujące esterazę cholinową dają efekty ośrodkowe analogiczne do acetylocholinę lub działanie jej znacznie wzmagają (*Desmedt, Grutta* 1957).

Całokształt przedstawionych faktów wskazuje, że acetylocholina sta-

* Wg przyjętego obecnie mianownictwa: istota siatkowata.

nowi prawdopodobnie mediator dla wielu neuronów rozsianych na różnych piętrach osi mózgowordzeniowej i że istnieją takie neurony, dla których acetylocholina nie jest mediatorem.

ADRENALINA I NORADRENALINA

Obecność sympatyny (noradrenaliny i adrenaliny) w obrębie mózgu stwierdzona została w 1954 r. przez *Martę Vogt*, a ostatnio potwierdzona histochemicznie przez *Anochina* (1958). Rozmieszczenie noradrenaliny w mózgu psa nie jest równomierne: najobficiej występuje w obrębie podwzgórza i w area postrema, następnie w śródmózgowiu, na dnie 4 komory i w środkowych partiach wzgórza. Obszary te odpowiadają ośrodkom wegetatywnym pnia mózgu oraz nieswoistym układom projekcyjnym kory mózgowej: układowi siateczkowemu oraz jako jego części tzw. rozsiانemu układowi projekcyjnemu wzgórza.

W mózgu obecna jest również oksydaza monoaminowa, nieswoisty enzym dla którego substratem są m. in. adrenalina i noradrenalina, a także serotonina (*Brodie* 1957). Rozmieszczenie oksydazy monoaminowej odpowiada w przybliżeniu rozmieszczeniu noradrenaliny — największą aktywność wykazuje podwzgórze, śródmózgowie i *septum pellucidum*.

Badania *Bonvallet*, *Della* i *Hiebla* (1954) na kotach nienarkotyzowanych wykazały, że adrenalina już w dawkach paru γ wywołuje desynchronizację krzywej elektrokortikograficznej na preparacie „*encephale isolé*” analogicznie do typowego efektu otrzymywanego przy drażnieniu części wstępującej układu siateczkowego. To działanie adrenaliny znika na preparacie „*cerveaux isolé*”, pozbawionym opuszkowej, mostowej i częściowo śródmózgowej części układu siateczkowego. W wyniku szergu cięć poprowadzonych przez pień mózgu *Bonvallet* i współpr. doszli do wniosku, że działanie adrenaliny skierowane jest na odcinek układu siateczkowego, położony ku przodowi od linii przebiegającej skośnie poza *corpus trapezoideum*, przed rdzeniem przedłużonym. Pogląd zespołu pracowni *Della* o pobudzającym wpływie adrenaliny na neurony układu siateczkowego popiera cały szereg innych obserwacji. *Rothballer* (1957) potwierdził fakt desynchronizacji elektrokortykogramu u kotów po wstrzyknięciu kotom do krwioobiegu adrenaliny. Termokoagulacja układu siateczkowego w obrębie *mesodiencephalon* zapobiegała temu efektowi.

Wpływ adrenaliny na neurony układu siateczkowego ma jednak charakter bardziej złożony. Adrenalina drażni pressoreceptory zatoki szyjnej i łuku aorty i na tej drodze prowadzi do działania przeciwnego, hamującego aktywność układu siateczkowego (*Bonvallet*, *Dell*, *Hiebel* 1954). Badania *Bonvallet*, *Hugelina* i *Della* (1956) wykonane techniką mikroelektrod zewnątrzkomórkowych na izolowanych całkowicie od wpły-

wów nerwowych fragmentach układu siateczkowego wykazały, że adrenalina posiada bardzo zróżnicowane działanie na poszczególne neurony tego układu: częstotliwość spontanicznych wyładowań wzrastała w jednych neuronach i wyraźnie malała w innych. Wyniki te potwierdzone zostały przez *Bradleya* i *Mollicę* (1958) na preparatach kotów decerebrowanych.

Hipoteza wysunięta przez *Della* i *Bonvallet* (1956), według której adrenalina obok acetylocholino pełni rolę mediatora w przewodnictwie międzyneuronowym układu siateczkowego, ma za sobą szereg poważnych argumentów. *Purpura* (1956) drażniąc układ siateczkowy na preparacie *encephale isolé* stwierdził desynchronizację rytmu elektrokortykograficznego nie tylko u drażnionego osobnika, lecz po 30—80-sekundowym okresie utajonym również u drugiego kota zespolonego z pierwszym metodą skrzyżowanego krążenia. O ile doświadczenia te zostaną potwierdzone, dowodzić to będzie, że przy drażnieniu układu siateczkowego wyzwala się do krwi jakiś czynnik neurohumoralny przenoszony z krwią i zdolny desynchronizować rytmy korowe a także podnosić ciśnienie i przyspieszać czynność serca na podobieństwo działania adrenaliny. Trudniej objaśnić wyniki otrzymane przez *Feldberga* i *Sherwooda* (1956), którzy stwierdzili sennność aż do całkowitej narkozy po wprowadzeniu kotom adrenaliny do płynu mózgowo-rdzeniowego komór bocznych. Wydaje się jednak, że efekt ten nie ma charakteru swoistego i zależy od samej drogi wprowadzenia neurohormonu, ponieważ podobne wyniki uzyskuje się po wprowadzeniu szeregu innych związków o zupełnie odmiennych właściwościach chemicznych i funkcjonalnych.

Doświadczenia *Taylor*a i *Page'a* (1953) oraz *Malmejaca* i współpr. (1956) wykonane na psach techniką izolowanej głowy *Heymansa*, udowodniły, że adrenalina hamuje bezpośrednio tonus ośrodków naczyniowych, niezależnie od pól recepcyjnych zatoki szyjnej. Wyniki te, jak również obserwacje *Marazziego* i *Harta* (1955) hamowania potencjału wywołanego kory mózgowej przez adrenalinę, wskazują na dwukierunkowość w działaniu adrenaliny.

SEROTONINA

Właściwy bodziec do niezwykłego zainteresowania ośrodkowym działaniem i rolą serotoniny, badanej od paru lat w pracowniach specjalizujących się w problematyce układu krążenia, pokarmowego i krwi, znanej pod tą nazwą od 1948 r. (*Rapport* i współpr.), wyszedł od strony farmakologów. Datuje się on od roku 1953. Wówczas to *Gaddum*, pracujący nad związkami antagonistycznymi wobec pochodnych tryptaminy wykazał, że kurczący wpływ 5-hydroksytryptaminy (5-HT) na macicę szczura zostaje zniesiony przez dwuetylamid kwasu lyzerginowego (LSD-25). O związku

tym było już wiadomo z przypadkowego spostrzeżenia Hoffmanna dokonanego mimo woli na sobie w pracowni Sandoza w 1943 r., że należy on do niezwykle silnych środków halucynogennych. Przypuszczenie wypowiedziane przez *Gadduma* (1953 i niezależnie przez *Woodleya* i *Shaw* (1954), że psychotomimetyczne działanie dwuetyloamidu kwasu lyzerginowego zależne jest od pewnego podobieństwa strukturalnego do seroniny i polega na antagonizmie konkurencyjnym w obrębie receptorów w tkance mózgowej, stało się czynnikiem zapładniającym wiele pracowni fizjologicznych i farmakologicznych. W tym samym okresie 2 niezależnie pracujące zespoły badawcze w Cleveland (*Twarog, Page* 1953) i w Edynburgu (*Amin, Crawford, Gaddum* 1954) posługujące się sercem małża *Spisula Solida* jako względnie swoistym testem biologicznym, wykazały obecność 5 HT w mózgu. Wyniki te potwierdzili następnie metodą spektrofotometryczną, uzyskując nieco wyższe wartości, *Bogdański* i *Udenfriend* (1956). Rozmieszczenie 5 HT w mózgu psa wykazuje stałe prawidłowości i pokrywa się w przybliżeniu z rozmieszczeniem noradrenaliny. Zawartość serotoniny wykazuje również pewne prawidłowe wahania: w mózgu myszy wyższa jest rano (okres zmniejszonej aktywności) i obniża się pod wieczór (okres wzmagającej się aktywności, *Albrecht, Halberg* i współpr. 1956). Rozmieszczenie w mózgu obu układów enzymatycznych: dekarboksylazy 5-hydroksytryptofanu, ostatniego ogniwa w systemie enzymów syntetyzujących serotoninę oraz oksydazy monoaminowej rozkładającej oksydacyjnie serotoninę, odpowiada z grubsza rozmieszczeniu serotoniny z wyjątkiem obszaru *area postrema*, bogatego w serotoninę i pozbawionego dekarboksylazy 5-hydroksytryptofanu (*Udenfriend, Weissbach, Bogdański* 1957, *Brodie* 1957).

Szczególną pozycję serotoniny w tkance mózgowej ilustruje szybkość jej przemiany. Czas połowicznego zaniku radioaktywnej serotoniny w mózgu wynosi 1—2 godziny, podczas gdy w płytkach krwi 33 godziny, a w tkance karcinoidów aż 132 (*Udenfriend, Weissbach* 1958).

Paradoksalnym zbiegiem okoliczności hipoteza, która zapoczątkowała falę zainteresowań serotoniną okazuje się obecnie niesłuszna (*Vogt* 1958). I tak *Rothlin* (1957) wykazał, że bromowa pochodna amidu kwasu lyzerginowego (2 brom — LSD — 25, BOL 148) pozbawiona jest wpływu na psychikę, chociaż przy badaniu na macicy szczura wykazuje ok. 1,5 raza silniejszy antagonizm w stosunku do serotoniny niż LSD-25. *Vogt* i współpr. (1957) stwierdzili na kotach, że 5 HT wprowadzona do komory bocznej mózgu redukuje amplitudę potencjałów EEG kory mózgowej (desynchronizacja rytmu) oraz w jądrze migdałowatym, prążkowi, okolicy przedwzrokowej, przyśrodkowych jądrach podwzgórza i w układzie siateczkowym śródmózgowia, zwalniając przy tym rytm tylko w okolicy przedwzrokowej i w prążkowi. 5 HT powoduje silne wyładowania o dużej

amplitudzie i częstotliwości do $45^{\circ}\text{C}/\text{sek}$. w obrębie układu siateczkowego rdzenia przedłużonego. Podobne zmiany o typie mieszanej reakcji obudzeniowo-sennej obserwowali *Gangloff* i *Monnier* (1957). *Costa* i *Rinaldi* (1957) zanotowali zniknięcie prawidłowego rytmu ϑ w obrębie hippokampa u królików pod wpływem 5-hydrokсыtryptofanu, prekursora serotoniny, zwiększającego jej zawartość w ośrodkowym układzie nerwowym. LSD-25 wprowadzony w niewielkiej dawce (20 γ/kg) do komory bocznej wywołuje podobnie do 5 HT desynchronizację elektrokortykogramu typową dla pobudzenia części wstępującej układu siateczkowego (*Vogt* i współpr. 1957, *Bradley*, *Hance* 1956, *Bradley*, *Key* 1956, *Bradley*, *Elkes* 1957). Występuje jednocześnie wzrost amplitudy potencjałów i przyspieszenie rytmu w jądrze migdałowatym, w okolicy przedwzrokowej, w prążkowiu i w przyśrodkowych ciałach kolanowatych. LSD-25 wprowadzony do komory bocznej na tle działania serotoniny wywiera wpływ antagonistyczny w stosunku do 5HT tylko w obrębie prążkowie (striatom) i w nucleus ventroposteromedialis thalami podczas gdy w innych obszarach (nucleus ventromedialis hypothalami, rdzeń przedłużony) zmiany EEG wywołane przez 5 HT ulegają nawet spotęgowaniu pod wpływem LSD-25 (*Bradley*, *Hance* 1956, *Bradley* 1958). Wyniki doświadczeń *Vogt* i *Bradleya* pozwalają na wniosek, że stosunek wzajemny dwuetylamidu kwasu lyzerginowego i serotoniny nie ma charakteru bezpośredniego antagonizmu czynnościowego, lecz sprowadza się do pobudzenia różnych ośrodków, regulujących odmienne, niekiedy antagonistyczne reakcje (*Vogt* 1958). W pewnych przypadkach można nawet mówić o synergizmie w działaniu 5 HT i LSD-25 na synapsy centralne (*Marazzi*, *Hart* 1955, *Slocombe* i współpr. 1956, *Bradley* i *Hance* 1956, *Bradley* 1957).

Trudność interpretacji wyników uzyskanych przy posługiwaniu się antymetabolitami serotoniny pogłębia istnienie rozmaitych hipotetycznych receptorów serotoniny w poszczególnych tkankach. *Gaddum* wyróżnia 2 rodzaje receptorów tryptaminergicznych w jelicie świnki morskiej: receptory D w samej mięśniówce, blokowane przez dibenzylinę LSD-25, dihydroergotaminę i 5-benzyllooksygraminę oraz receptory M w obwodowych elementach nerwowych, blokowane przez morfinę, atropinę i związki do niej zbliżone oraz przez kokainę.

Nie ma żadnych danych, z jakim typem receptorów tryptaminergicznych mamy do czynienia w mózgu. Wydaje się wszakże, że trudno mówić o jednym typie receptorów w różnych ośrodkach, ponieważ działanie serotoniny na różne neurony jest bardzo różnorodne — zarówno pobudzające jak i hamujące, co wynika pośrednio z różnorodności zmian elektroencefalograficznych, zachodzących pod wpływem serotoniny w różnych ośrodkach (*Gangloff*, *Monnier* 1957, *Vogt* i współpr. 1957). W doświadczeniach własnych (*Trzebski* 1958) stwierdziłem, że serotonina wprowadzona bez-

pośrednio do pewnych punktów układu siateczkowego rdzenia przedłużonego u kota już w ilości 2 γ powoduje wzrost ciśnienia tętniczego. Ta sama dawka wprowadzona do układu siateczkowego śródmózgowia nie wywołuje wzrostu, lecz często wyraźny spadek ciśnienia (Trzebski, Jung 1958). Nie ma dotąd mikroelektrofizjologicznej analizy działania seortoniny. Wiadomo jednak, że 5 HT zmienia przepuszczalność błony komórkowej dla jonów, utrudniając utratę potasu z krwinek czerwonych poddanych działaniu roztworów hipotonicznych (Pickles 1957).

Marazzi i Hart (1955) stwierdzili pod wpływem 5 HT wstrzykiwanej do tętnicy szyjnej w kierunku domózgowym zmniejszenie ujemnej fali potencjału wywołanego kory mózgowej, co wskazywałoby na częściową blokadę aksodendrytycznych synaps depolaryzacyjnych powierzchni kory mózgowej. Podobne wyniki uzyskane pod wpływem iproniazidu (Marsilid), blokującego oksadazę monoaminową (Zeller i współpr. 1955) wskazują, że 5 HT odgrywa rolę neurohormonu działającego miejscowo na synapsy korowe (Gluckman, Hart, Marazzi 1957). Efekty te wydają się jednak nieswoiste (Malcolm 1958).

Angelucci (1956) perfundował rdzeń kręgowy żeby podczas odruchu fleksji i znalazł w perfuzacie substancję odpowiadającą właściwościom 5 HT przy badaniu na sercu małża *Spisula Solida*. Fakt ten w razie potwierdzenia byłby poważnym argumentem na korzyść teorii o 5 HT, jako mediatorze w synapsach centralnych. Znacznie lepiej pod tym względem opracowana jest teoria pośrednictwa 5 HT w zakończeniach nerwowych u niższych zwierząt, np. w zakończeniach nerwowych w sercu *Venus mercenaria* (Welsh 1953, 1957).

Scarinci (1955) stwierdził pod wpływem małych dawek 5 HT obniżenie progu pobudliwości kory mózgowej przy drażnieniu bezpośrednim oraz zniesienie drgawek wywołanych miejscowym zastosowaniem strychniny na korę mózgową. Feldberg i Sherwood (1954) obserwowali zmniejszenie ruchliwości i przyjmowanie pozycji śpiącej u kotów po wprowadzeniu serotoniny do komory bocznej mózgu (również Hance i Bradley 1956 i Sachi i współpr. u psów). U myszy i u szczurów 5HT podana dootrzewnowo wywołuje senność, wzmacnia wrażliwość na barbituraty i inne środki nasenne, zmniejsza aktywność ruchową i zahamowuje ruchowe odruchy warunkowe (Cook, Weidley 1957, Pierre i Cahn 1956). Ostatnia obserwacja nie została potwierdzona przez Pfeiffera i Jenney (1957). Podobne efekty można obserwować podając 5-hydroksytryptofan, prekursor serotoniny (Bogdański, Weissbach, Udenfriend 1957). 5-hydroksytryptofan użyty do doświadczeń posiada dużą przewagę nad serotoniną, ponieważ przenika bez trudu barierę hematoencefaliczną (Udenfriend, Weissbach, Bogdański 1957), ulega dekarboksylacji w tkance mózgowej i prowadzi do wzrostu w niej zawartości serotoniny, szczególnie w zakresie hipokampa (Costa,

Rinaldi, Himwich 1957). Sama serotonina zaledwie w ok. 1% przenika ze krwi do tkanki mózgowej (Costa, Aprison 1958). U królików duże dawki 5-hydroksytryptofanu wywołują stan silnego pobudzenia, przypominający działanie LSD-25 (Udenfriend, Weissbach, Bogdański 1957, Costa, Rinaldi, Himwich 1957). Efekty 5 HT mogą w tych warunkach sumować się z działaniem pobudzającym jej antymetabolitu LSD-25. Celem wyjaśnienia tej sprzeczności Brodie i Shore (1957) przyjmują, że nadmiar wolnej serotoniny w tkance mózgowej działa przeciwnie niż ilości fizjologiczne, porażając odpowiednie neurony tryptaminceptywne na zasadzie depolaryzacyjnego bloku przewodnictwa synaptycznego. Dzięki temu ujawniają się nieznaczne reakcje ośrodków antagonistycznych. Argumentem na korzyść tego poglądu jest fakt, że podowanie serotoniny po uprzednim podaniu królikowi iproniazidu, również prowadzi do silnego pobudzenia zwierzęcia. W tym wypadku nadmiar działającej serotoniny powstaje wskutek utrudnienia jej rozpadu.

Wśród różnorodności złożonych metodyk, m. in. odruchowo-warunkowej (Brady 1957), zasługuje na uwagę nowy sposób postępowania opracowany w wyniku niezwykle interesującego odkrycia Oldsa (Olds, Milner 1954, Olds 1957). Zaobserwował on, że jeśli implantuje się chronicznie szczurom, kotom lub małpom elektrody do niektórych okolic podkorowych obejmujących tzw. „limbic system” i środki związane z efektami parasympatycznymi (jądro migdałowe, *area septalis*, przednie wzgórze, przednia i środkowa część podwzgórza) oraz niektóre punkty nakrywki pnia mózgu stanowiące projekcje jądra migdałowego i następnie drażni się te okolice, wówczas występuje zjawisko nazwane przez autora samodrażnieniem (self-stimulation). Zwierzę naciska dźwignię zamykającą obwód prądu na $\frac{1}{2}$ sek. i pokonuje w tym celu nawet szereg przeszkód (labirynt), aby dotrzeć do przycisku. Częstotliwość włączeń prądu wynosi od kilkudziesięciu do 6 000 a nawet 8 000 na godzinę w zależności od drażnionych ośrodków i ogólnego stanu zwierzęcia (głód, poziom hormonów płciowych itd.). Posługując się powyższą metodą Olds (1957) wykazał, że rezerpina znacznie redukuje częstotliwości samodrażnień prądem 1 V, 0,65 μ amp., o ile elektrody umieszczone są w brzusznośrodkowej części podwzgórza oraz w obrębie hipokampa i jądra migdałowego, natomiast nie wpływa na częstotliwości samodrażnień przy lokalizacji elektrod w obrębie septum i w szeregu punktów przedmózgowia.

Wskazuje to na określoną lokalizację ośrodkowego działania rezerpiny. W podobny sposób Olds, Killam i Eiduson (1957) obserwowali antagonizm pomiędzy 5 HT i LSD-25 podawanymi dootrzewnowo szczurom przy obecności elektrod w okolicy poniżej septum i w ośrodkowym podwzgórzu, gdzie przepuszczalność bariery hematoencefalicznej jest większa. Odwróceniem metody Oldsa jest analiza uwarunkowanej reakcji unikania

(avoidance reaction), związanej z chronicznym drażnieniem ośrodków sympatycznych i ośrodków reakcji obronnych i agresywnych w śródmózgowiu i tylnym podwzgórzu. Rezerpina osłabia wyraźnie reakcję unikania (*Napolitano, Longo 1957, Roy, Wenzel, Tschirgi 1958*). Ramy niniejszego referatu nie pozwalają na dokładne omówienie doniosłości tych odkryć. Nie ulega wszakże wątpliwości, że metody na nich oparte będą stanowić szczególnie subtelne narzędzie przy badaniu zjawisk z pogranicza neurofizjologii i doświadczalnej psychologii.

Nierozwiązanym dotąd problemem jest stosunek serotoniny wolnej do serotoniny związanej w tkance nerwowej i znaczenie tych obu form dla czynności ośrodków nerwowych. Sprawa ta wyłoniła się na tle stwierdzenia przez *Shorę* i współpr. (1955, 1957) i *Paasonen* i *Vogt* (1956), że alkaloidy z grupy Raufwolfa, w szczególności reserpina o wyraźnym sedatywnym i parasympatykotonicznym działaniu, powodują zmniejszenie zawartości 5 HT w mózgu i w innych tkankach i przekształcenie serotoniny związanej w postać swobodną.

Najważniejszą trudnością dla teorii *Shore* i *Brodie'go*, postulującej, że reserpina działa poprzez serotoninę, jest nieswoisty charakter działania rezerpiny. Rezerpina uwalnia bowiem z tkanek nie tylko serotoninę, ale również inne aminy, m. in. histaminę, a w szczególności noradrenalinę (*Holzbauer, Vogt 1956, Muschall, Vogt 1957, 1958, Brodie* i współpr. 1957). Ten mechanizm wydaje się odpowiedzialny, przynajmniej częściowo, za działanie obwodowe rezerpiny. Po początkowej fazie pobudzenia zubożenie nadnerczy w katechole i włókien sympatycznych w sympatynę obniża reaktywność układu sympatycznego i zakłócić może równowagę vegetatywną w kierunku przewagi układu cholinergicznego (*Brodie 1958*). Wyzwalanie noradrenaliny z tkanek przez rezerpinę jest procesem złożonym o nieznanym mechanizmie. Biorą w nim udział również ośrodki nerwowe, ponieważ u zwierząt rdzeniowych w odniesieniu do katecholi nadnerczy efekt ten jest słabiej zaznaczony (*Shore, Olin, Brodie 1957*).

Wobec faktu, że pod wpływem alkaloidów Raufwolfa zawartość noradrenaliny w mózgu obniża się wybitniej niż serotoniny (*Kärki, Paasonen 1959*) można przypuszczać raczej, że ten efekt stanowi mechanizm działania ośrodkowego rezerpiny.

Brodie i *Shore* (1957) wysunęli hipotezę, że 5 HT stanowi mediator w obrębie ośrodków parasympatycznych podwzgórza i w szerszym sensie w obrębie układu trofotropowego Hessa. Hipoteza ta opiera się w znacznym stopniu na założeniu, że rezerpina wywiera swoje działanie sedatywne i parasympatykotoniczne za pośrednictwem serotoniny wyzwalanej bezpośrednio w obrębie podwzgórza. W takim przypadku należałoby oczekiwać zwiększonej pobudliwości ośrodków parasympatycznych. Tymczasem doświadczenia *Oldsa* wskazują, że rezerpina hamuje efekty samodrażnie-

nia przy lokalizacji elektrod w ośrodkach parasympatycznych (por. wyżej). Ponadto działanie rezerpiny nie dotyczy bezpośrednio ośrodków sympatycznych podwzgórza i pnia mózgu, ponieważ nie wpływa ona na próg pobudliwości i na efekty presyjne przy drażnieniu podwzgórza i ośrodków presyjnych rdzenia przedłużonego (Schneider 1955, Harrison, Goth 1956). Wpływ hamujący rezerpiny ma zapewne charakter pośredni poprzez układy afferentne podwzgórza (Schneider 1955), albo poprzez wyżej położone struktury w obrębie rhinencephalon („limbic system”, Killam, Killam Shaw 1957) lub poprzez samą korę mózgową (Schneider i współpr. 1955).

Pogląd przenoszący całe zagadnienie działania serotoniny poza obręb samej komórki nerwowej, wysuwają Wooley i Shaw (1957). I tak Benitez, Murray i Wooley (1955) stwierdzili, że serotonina powoduje silny skurcz komórek *oligodendroglia*, utrzymywanych w hodowli tkankowej *in vitro* i wykazujących charakterystyczne rytmicznie pulsujące ruchy. Antymetabolity serotoniny znoszą te skurcze i rozkurcze. Ruchy pulsujące w warunkach naturalnych mogą stanowić czynnik ułatwiający krążenie płynu w przestrzeni międzykomórkowej mózgu (Wooley, Shaw 1957). Serotonina, zdaniem Wooley'a i Shaw, byłaby neurohormonem podtrzymującym stałą pulsację komórek *oligodendroglia* i pośrednio sprzyjałaby na tej drodze prawidłowemu zaopatrzeniu komórki nerwowej w tlen i produkty odżywcze. Sprawdzenie tej hipotezy wymaga jednak obserwacji *in situ*.

Dotychczasowy materiał doświadczalny dowodzi poważnej roli serotoniny w czynności ośrodków nerwowych, ale pełen jest jeszcze niejasności, sprzeczności i nie pozwala na jednolite ujęcie.

AMINOKWASY CZYNNE W STOSUNKU DO SYNAPS CENTRALNYCH

Skład wolnych aminokwasów w centralnym układzie nerwowym jest inny niż we wszystkich pozostałych narządach. Kwas glutaminowy, γ -aminomasłowy wraz z glutaminą i glutationem obejmują tu ponad $\frac{2}{3}$ ogólnego azotu aminowego frakcji pozabiałkowej mózgu (Tallan, Moore, Stein 1954). Mimo małej przepuszczalności bariery hematoencefalicznej wymiana swobodnych aminokwasów między ogólną pulą organizmu a tkanką nerwową zachodzi szybko dzięki intensywnej przemianie aminokwasów w mózgu. Badania przy użyciu radio-izotopowych aminokwasów wykazują, że szczególnie glutamina, kwas glutaminowy, lizyna i leucyna ulegają szybkiej wymianie (Lajtha 1958, 1959, Lajtha i współpr. 1959). Do niedawna rola aminokwasów ujmowana była wyłącznie z punktu widzenia przemian wewnątrzkomórkowych tkanki nerwowej. Zwrot w kierunku uznania niektórych aminokwasów za neurohormony czynne na powierzchniach synaptycznych zapoczątkowany został odkryciem Floreya (1954)

i *Florey Mac Lennana* (1955). Sporządzony przez nich wyciąg z tkanki mózgowej ssaków zawierał czynnik (czynnik I), obecny również w płynie mózgowo-rdzeniowym, hamujący impulsację w receptorze rozciągania raka (stretch receptor), zapobiegający drgawkom strychninowym myszy oraz hamujący, przy miejscowym zastosowaniu, monosynaptyczne odruchy rdzeniowe. W szeregu prac tego zespołu czynnik ten zróżnicowany został z innymi ciałami czynnymi mózgu i zidentyfikowany jako głównie kwas γ -aminomasłowy (*Bazemore, Elliot, Florey 1956, Mac Lennan 1957*). Kwas γ -aminomasłowy obecny jest w całym ośrodkowym układzie nerwowym, w większych ilościach we wzgórzu i podwzgórzu (*Berl, Waelsch 1958*). Wstrzyknięty do tętnicy szyjnej w kierunku domózgowym znosi ujemną falę potencjału wywołanego kory mózgowej (*Marazzi, Hart, Rodrigues 1958*), odwraca kierunek spolaryzowania „wrzecion” elektrokortykogramu (*Kitsuya, Jaspers 1957*) oraz odsłania zamaskowaną dodatnią falę potencjału wywołanego kory mózgowej (*Purpura, Girado, Smith, Callan, Grundfest 1959*). Fakty te wskazują, że kwas γ -aminomasłowy blokuje czynność synaps depolaryzujących. Z drugiej strony badania techniką mikroelektrod na komórkach receptora rozciągania raka wykazały, że hiperpolaryzujące działanie kwasu γ -aminomasłowego pokrywa się we wszystkich szczegółach z naturalnym stanem hamowania receptora. Zależnie od stężenia występuje druga faza działania — depolaryzacja (*Kuffler, Edwards 1958*). Ponieważ efekt zachodzi również na preparatach pozbawionych synaps nasuwa się przypuszczenie, że kwas γ -aminomasłowy penetruje do wnętrza komórki i poprzez zmianę aktywności pompy sodowo-potasowej prowadzi do stanu hiperpolaryzacji. Przemawia za takim mechanizmem wpływ kwasu γ -aminomasłowego zwiększający przemianę tlenową skrawków mózgowej *in vitro* (*Mac Khann, Tower 1959*). Działanie kwasu γ -aminomasłowego pozostaje być może w pewnym związku z acetylocholiną, ponieważ potęguje on jej efekt hipotensyjny (*Romanowski 1958*). Pewną trudnością dla hipotezy o działaniu kwasu γ -aminomasłowego jako mediatora jest brak mechanizmów inaktywujących lub rozkładających go dostatecznie szybko (*Elliot, Gelder 1958*). Prace *Hayaski* (1956, 1957, 1959) zwróciły uwagę na hydroksy-pochodną kwasu γ -aminomasłowego — kwas β -hydroksy- γ -aminomasłowy. Hamuje on znacznie silniej drgawki wywołane lokalnym elektrycznym lub chemicznym drażnieniem kory mózgowej psa a także wstrzykiwaniem do komór bocznych glutaminianu sodu lub długotrwałą perfuzją komór izotonicznym roztworem chlorku sodu. Kwas β -hydroksy- γ -aminomasłowy obecny jest stale w tkance nerwowej i w płynie mózgowo-rdzeniowym. Prawdopodobnie równowaga wzajemna układu kwas glutaminowy \rightarrow kwas γ -aminomasłowy \rightarrow kwas β -hydroksy- γ -aminomasłowy określa stan czynnościowy wielu neuronów.

Rozległe badania *Purpury* i współpr. (1959) nad zależnością między

strukturą chemiczną i aktywnością synaptyczną szeregu naturalnych i syntetycznych aminokwasów oraz ich pochodnych aminowych wykazały, że działają one wyłącznie na synapsy aksodendrytyczne powierzchniowej warstwy kory mózgowej, nie wpływając na synapsy aksosomatyczne, tzn. ω -aminokwasy o długości łańcucha od 2 do 5 atomów węgla β -hydroksyalanina działają jako inaktywatory synaps pobudzeniowych. Aminokwasy o dłuższym łańcuchu węglowym inaktywują hyperpolaryzacyjne synapsy hamujące. Podobnie działają ω -gunidynoaminokwasy co zasługuje o tyle na uwagę, że kwas γ -gunidynomasłowy obecny jest prawidłowo w tkance nerwowej (Pisano, Mitoma, Udenfriend 1957). Aktywność w stosunku do synaps, tj. zdolność do łączenia się z receptorami błony postsynaptycznej hamulcowej lub pobudzeniowej, określona jest, zdaniem Purpury, Grundfetsa i współpr. przez stopień polaryzacji cząsteczki określony różnicą ładunków elektrycznych i odległością pomiędzy ujemnym i dodatnim skrajnym ugrupowaniem aminokwasu. Mały stopień polaryzacji usposabia do inaktywującego działania na synapsy depolaryzujące — większy (w miarę wzrostu długości łańcucha lub różnicy ładunków) wzmagają powinowactwo do synaps hiperpolaryzacyjnych. Fakt, że obecne w tkance nerwowej wolne aminokwasy, w tym również tak obficie reprezentowane jak kwas glutaminowy czy asparaginowy, wywierają wybitny i swoisty wpływ na błonę postsynaptyczną sugeruje poważnie rolę ich jako naturalnych neurohormonów — mediatorów działających zewnątrzkomórkowo. Jednak rozstrzygnięcie, w jakim stopniu efekty ich zależne są od działania bezpośredniego, a w jakim od ingerencji w wewnątrzkomórkowe mechanizmy syntezy, wymaga dalszych badań.

Badania w tej młodej dziedzinie rozwijają się niezwykle szybko i stale przybywają tu nowe fakty zmuszające niekiedy do rewizji istniejących hipotez.

Substancja P v. Eulera i Gadduma stanowi polipeptyd zawarty m. in. w mózgu, przy czym rozmieszczenie jej podobne jest do rozmieszczenia serotoniny i noradrenaliny (Amin i współpr. 1954). Po wprowadzeniu dożylnym substancja P nie wykazuje działania na ośrodki, natomiast duże dawki wstrzyknięte do 4 komory mózgu kota powodują pobudzenie czynności oddechowej i osłabienie ogólnej ruchliwości zwierzęcia (Euler, Pernow 1956). Angelucci (1956) stwierdził obecność substancji P w płynie perfundującym rdzeń kręgowy żab podczas wykonywania odruchów fleksji. Według obserwacji Zetlera (1956) oraz Sterna i Dobriča (1957) substancja P wywiera działanie sedatywne u myszy, hamuje drgawki strychninowe, potęguje narkozę barbiturową i hamuje u kotów odruchy rdzeniowe polisynaptyczne. Obecność substancji P w korzonkach tylnych (Hellauer, Umrath 1958) oraz w słupach tylnych rdzenia i w jądrze smu-

kłym i klinowatym (Pernow 1953) stanowi podstawę do przypuszczenia, że jest ona mediatorem w pierwszych synapsach szlaków czuciowych (Lembeck 1953).

HISTAMINA

Zawartość histaminy w mózgu jest nieznaczna i ogranicza się tylko do okolicy lejka (wg *Feldberga* 1956). Łącznie z faktem nikłej zawartości dwuaminooksydazy (histaminazy) w mózgu (*Zeller* i współpr. 1939) należy uznać za mało prawdopodobne przypuszczenie, że histamina stanowi mediator w synapsach centralnych. Tym niemniej może ona odgrywać pewną rolę doprowadzona z zewnątrz, zwłaszcza jeśli poziom jej we krwi wzrasta. Wskazują na to obserwacje nad działaniem histaminy na ośrodki nerwowe (m. in. *Taylor* i *Page* 1951, *Nakayama* 1955, *Kovach* 1955, *Brandon* 1955, *Walawski* 1955, *Trzebski* 1956, *Trendelenburg* 1957, *Miętkiewski* i współpr. 1958, *Bhawe* 1958).

Adenozynotrójfosforan zawarty jest w znacznych ilościach w całym ośrodkowym układzie nerwowym oraz w korzonkach tylnych rdzenia kręgowego i stanowi prawdopodobnie czynnik odpowiedzialny za wazodilatację przy ich drażnieniu antydromowym (*Holton, Holton* 1954).

INNE CIAŁA CZYNNE

Czynnik zawarty w wodnych wyciągach z tkanki nerwowej, hamujący pobudliwość kory mózgowej i odruchy rdzeniowe oraz zapobiegający drgawkom strychninowym u myszy, wykryty został przez *Lissaka* i *Endroczi* (1957). *Vogt* (1957) zbadał tzw. „Darmstoff”, substancję zawartą w wyciągach z jelita, pobudzającą perystaltykę. Dochodzi on do wniosku, że „Darmstoff” posiada cechy chemiczne rozpuszczalnego w tłuszczach fosfatydu. Tego rodzaju kwasy rozpuszczalne w tłuszczach mogą, zdaniem *Vogta* działać jako wymienniki kationowe w stosunku do błony komórkowej. Gdyby zmiana równowagi jonowej między środowiskiem zewnętrznym i wewnątrzkomórkowym mogła zachodzić przy udziale naturalnych wymienników jonowych — otwierałoby to perspektywy na nowe mechanizmy powstawania hyperpolaryzacji i depolaryzacji błony komórkowej. W związku z tą hipotezą interesujące są wyniki doświadczeń *White* i *Sansona* (1956), którzy stwierdzili, że aniony kwasów tłuszczowych wprowadzone do krwioobiegu powodują synchronizację krzywej EEG i pojawianie się typowych wrzecion, charakterystycznych dla snu.

Czynnik otrzymany z wyciągów mózdzku opisany został przez *Crosslanda* i *Mitchella* (1956). Po wstrzyknięciu do tętnicy szyjnej w kierunku domózgowym powoduje on aktywację czynności elektrycznej mózdzku. Natura chemiczna czynnika nie została jeszcze poznana.

Dalsze badania nad ciałami czynnymi mózgu, zapoczątkowane u nas przez *Gutowskiego* (1928), pozwolą zapewne w sposób bardziej precyzyjny odpowiedzieć na pytanie, jakie ciała czynne pełnią rolę naturalnych neurohormonów — mediatorów w synapsach centralnych. Omawiane dotychczas substancje z pewnością nie wyczerpują tej listy i nie wiadomo nawet czy należą do ciał najważniejszych. Obiecujące perspektywy zdają się tu otwierać badania nad pochodnymi naturalnych aminokwasów, których poważna rola w metabolizmie tkanki mózgowej jest dobrze ustalona. Na razie w tej nowej dziedzinie więcej jest znaków zapytania i hipotez niż faktów bezspornie ustalonych.

Na zakończenie chciałbym zwrócić uwagę tylko na 2 otwarte, ogólne problemy, których rozwiązanie zaważyć może na niektórych podstawowych poglądach w neurofizjologii. Gdyby przyjąć, a wiele za tym przemawia, że istnieją osobne mediatory dla procesu hyperpolaryzacji i depolaryzacji, tj. dla procesu hamowania i pobudzenia neuronu, wówczas, zgodnie z prawem Dale'go, że komórka nerwowa wydzielać może na swych zakończeniach jeden tylko rodzaj mediatora, należałoby przyjąć istnienie osobnych neuronów hamulcowych i pobudzeniowych. Komórki, których jedyną znaną czynnością jest czynność hamowania, opisane już zostały przez *Ecclesia* i współpracowników. Są to komórki Renshaw — rogów przednich rdzenia kręgowego. Drugi nasuwający się problem, to pytanie, czy w różnych ośrodkach nerwowych zawiadujących antagonistycznymi zespołami czynności działają odmienne mediatory, podobnie jak na obwodzie w zakończeniach nerwów wegetatywnych? Czy geografii czynnościowej mózgu odpowiada geografia neurohumoralna? Te i cały szereg innych zagadnień czekają dopiero na szczegółowe rozwiązanie.

PIŚMIENNICTWO

1. *Albrecht P., Visscher M. B., Bittner I. I., Halberg F.*: Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 1956, 92, 73. — 2. *Amin A. H., Crawford T. B., Gaddum I. F.*: J. Physiol., 1954, 126, 596. — 3. *Angelucci L. H.*: Brit. J. Pharm., 1958, 11, 161, 19, 23, wg Vogt w zbiorze „5-Hydroxytryptamine”, 209. — 4. *Anochin P. K.*: Acta Physiol. Polon., 1958, 2, 131. — 5. *Aprison M. H., Nathan P., Himwich H. E.*: Am. Physiol., 1956, 184, 244. — 6. *Bakay L.*: The Blood-Brain Barrier with Special Reference to the Use of Radio-Active Isotope. Springfield Thomas, 1956. — 7. *Baker H., Ruth V.*: J. Physiol., 1958, 142, 563. — 8. *Bezemore A., Elliot K. A., Florey E.*: Nature, 1956, 178, 1052, J. Neurochem., 1957, 1, 334. — 9. *Benitez H., Murray M., Woolley D. W.*, Anat. Record, 1955, 121, 446. — 10. *Beritow I. S.*: Żurnał Wyższ. Nerwn. Dejat., 1956, 6, 131.
11. *Bhawe W. B.*: J. Physiol., 1958, 140, 169. — 12. *Bonnet V., Bremer F.*: C. Rend. Soc. Biol., Paris, 1937, 136, 1271. — 13. *Bonnycastle D. D., Giarman N. I., Paasonen M. K.*: Brit. J. Pharmacol., 1957, 12, 228. — 14. *Bonvallet M., Dell P., Hiebel G.*: EEG a. Clin. Neurophysiol., 1954, 6, 119. — 15. *Bonvallet M., Hugelin A., Dell P.*: J. Physiol., 1956, 48, 403. — 16. *Bradley P. B.*: W zbiorze „5-Hydroxytryptamine”, Pergamon

Press. 1958, 214. — 17. *Bradley P. B., Elkes I.*: J. Physiol., 1953, 120, 13 P, 14 P. — 18. *Bradley P. B., Elkes I.*: Brain, 1957, 80, 77. — 19. *Bradley P. B., Hance A. I.*: EEG a. Clin. Neurophysiol., 1956, 9, 191. — 20. *Bradley P. B., Key B. I.*: Abstr. XXth Internat. Physiol., Congr., 1956, 124.

21. *Bradley P. B., Mollica*: Arch. Ital. Biol., 1958, 46, 168. — 22. *Brady I. V.*: Ann. New York Acad. Sicien., 1957, 66, 719. — 23. *Brandon A.*: Arch. int. Physiol., 1955, 63, 337. — 24. *Brodie B. B.*: W zbiorze „Neuropharmacology” Josiah Macy Foundation, New York, 1957, 323. — 25. *Brodie B. B.*: W zbiorze „5-Hydroxytryptamine”, 1958, 64, Pergamon Press. — 26. *Brodie B. B., Olin I. S., Nuntzmann R. G., Shore P. A.*: Science, 1957, 125, 1293. — 27. *Brodie B. B., Shore P. A.*: Am. New York Acad. Sci., 1957, 66, 631. — 28. *Brock L. G., Coombs I. S., Eccles I. C.*: J. Physiol., 1952, 117, 431, 1953, 122, 429. — 29. *Brocks V. B., Curtis D. R., Eccles I. C.*: Nature, 1955, 175, 120. — 30. *Brooks C. Mc., Curtis D. R., Eccles I. C.*: J. Physiol., 1957, 135, 655.

31. *Billbring E., Philipot F. I., Bosaquet F. D.*: Lancet, 1956, 865. — 32. *Del Castillo I., Katz D.*: J. Physiol., 1954, 125, 546, 1955, 128, 157, 396; Nature, 1955, 175, 1035. — 33. *Chang H. T.*: J. Neurophysiol., 1951, 14, 1. — 34. *Clare M. H., Bishop G. H.*: EEG a. Clin. Neurophysiol., 1955, 7, 85. — 35. *Cook K., Weidley E.*: Am. N. Y. Acad. Sci., 1957, 56, 740. — 36. *Coombs I. S., Eccles I. C., Fatt P.*: J. Physiol., 1955, 130, 291, 326, 374, 396. — 37. *Costa E., Rinaldi F.*: Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, 66, 587. — 38. *Costa E., Aprison M. H.*: Am. J. Physiol., 1958, 192, 95. — 39. *Costa E., Rinaldi F., Himwich H. E.*: W zbiorze: Psychotropie Drugs, 1957. — 40. *Creed R. S., Hertz D. H.*: J. Physiol., 1935, 78, 85.

41. *Crossland I., Mitchell I. E.*: J. Physiol., 1956, 132, 391. — 42. *Curtis D. R., Eccles J. C., Eccles R. M.*: J. Physiol., 1957, 136, 420. — 43. *Curtis D. R., Eccles R. M.*: J. Physiol., 1958, 141, 435, 446. — 44. *Desmedt I. E., La Grutta G.*: J. Physiol., 1957, 136, 20. — 45. *Dow R. S.*: J. Physiol., 1958, 94, 67. — 46. *Eccles J. C.*: „The Neurophysiological Basis of Mind. The Principles of Neurophysiology”. Oxford., 1953. — 47. *Eccles J. C., Fatt P., Koketsu K.*: J. Physiol., 1954, 126, 524. — 48. *Eccles J. C., Eccles R. M., Fatt P.*: J. Physiol., 1956, 131, 154. — 49. *Eccles J. C.*: „The Physiology of Nerve Cell”. Oxford Clarendon Press, 1958. — 50. *Elkes J.*: W zbiorze: „Neuropharmacology, Transactions of the Third Conference”. Josiah Macy Foundation, New York, 1957, 205.

51. *Elliatt K. A. C., Gelder N. M.*: J. Neurochem., 1958, 3, 28. — 52. *Eccler U. S., Pernow B.*: Acta Physiol., Scand., 1956, 36, 265. — 53. *Fatt P.*: J. Neurophysiol., 1957, 20, 26, 61. — 54. *Feldberg W.*: Physiol. Rev., 1945, 25, 596. — 55. *Feldberg W., Vogt M.*: J. Physiol., 1948, 107, 372. — 56. *Feldberg A., Harris G. W., Lin R. C. Y.*: J. Physiol., 1951, 112, 400. — 57. *Feldberg W.*: Arch. Inter. Physiol., 1951, 59, 544. — 58. *Feldberg W., Sherwood S. G.*: J. Physiol., 1954, 123, 148. — 59. *Feldberg W., Sherwood S. G.*: Brit J. Pharmacol., 1955, 10, 371. — 60. *Feldberg W.*: xxe Congres Internat de Physiolog. Bruxelles, 1956.

61. *Feldberg W.*: W zbiorze „Histamine” Ciba Symposium. London Churchill L. t. d., 1956, 4—13. — 62. *Feldberg W., Malcolm I., Smith D.*: J. Physiol., 1957, 138, 178. — 63. *Fessard A., Posternak I.*: J. de Physiol., 1950, 42, 319, 59, 544. — 64. *Florey E.*: Naturwissenschaften, 1953, 40, 413. — 65. *Florey E.*: Arch. Inter. Physiol., 1954, 62, 33. — 66. *Florey E., Mc Lennan H.*: J. Physiol., 1955, 129, 384, 130, 446. — 67. *Friedmann U.*: „The blood-brain barrier with special reference to the use of radioactive Isotope”. Springfield, Thomas 1956. — 68. *Geddam I. H.*: J. Physiol., 1953, 119, 363, 121, 15. — 69. *Geddam I. H., Picarelli P. Z.*: Brit J. Pharmacol., 1957, 12. — 70. *Gangloff H., Monnier M.*: Helv. Physiol. Pharm. Acta, 1957, 15, 83.

71. *Gellhorn E.*: EEG a. Clin. Neurophysiol., 1956, 8, 413. — 72. *Gluckman M. I.*,

Hart E. R., Marazzi A. S.: Science, 1957, 126, 3271, 448. — 73. Goldring S., O'Leavy T. L.: EEG a. Clin. Neurophysiol., 1955, 7, 85. — 74. Grundfest H., Purpura D. P.: Nature, 1956, 178, 416. — 75. Grundfest H.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, 66, 537. — 76. Grundfest H., Purpura D. P.: XX^e Congres Internat. de Physiologie, Bruxelles 1956, 374. — 77. Gutowski B.: Polska Gazeta Lekarska, 1928, 26. — 78. Harrison F., Goth A.: J. Pharm. Exper. Therap., 1956, 116, 262. — 79. Hayashi T., Nagai K.: XX^e Congres Internat. de Physiologie Bruxelles, 1956, 410. — 80. Hayashi T., Suhara R.: XX^e Congres Internat. de Physiologie, Bruxelles, 1956, 410.

81. Hebb C. O.: J. Physiol., 1956, 134, 718. — 82. Hellauer H. F., Umrath K.: Pflüg. Arch. ges. Physiol., 1948, 249, 619. — 83. Hiebel G., Bonvallet M., Huve P., Dell P.: La Semaine des Hopiteaux, 1954, 30, 1880. — 84. Hodgkin A. L., Katz B.: J. Physiol., 1949, 108, 37. — 85. Hodgkin A. L., Huxley A. F.: Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol., 1952, 17, 43. — 86. Hodgkin A. L., Keynes R. D.: J. Physiol., 1955, 128, 28 i 61. — 87. Holton F. A., Holton P.: J. Physiol., 1954, 126, 124. — 88. Holzbauer M., Vogt M.: J. Neurochem., 1956, 1, 8. — 89. Hutter P. F., Trautwein W.: J. Gen. Physiol., 1956, 39, 715. — 90. Huxley A. F., Stämpfli R.: J. Physiol., 1949, 108, 315.

91. McIntosh F. C.: J. Physiol., 1941, 99, 436. — 92. McIntosh F. C., Oborin P. E.: XX Internat. Congres Physiol. Montreal, 1953. — 93. Kärki N. T., Pausoen M. K.: J. Neurochem., 1959, 3, 352. — 94. Keynes R. D.: J. Physiol., 1951, 114, 119. — 95. Kitsuya Iwama, Jasper: J. Physiol., 1957, 138, 365. — 96. Kopehen H. P., Loeschke H. H.: XX^e Congr. Internat. Physiologie, Bruxelles, 1956, 513. — 97. Kovach A. G. B.: Acta Physiol. Polon., 1955, 3, 241. — 98. Konorski I.: „Conditioned reflexes and neuron organization”, Cambridge 1948. — 99. Kuffler S. W., Eyzaguirre C.: J. Gen. Physiol., 1955, 39, 155. — 100. Kuffler S. W., Edwards Ch.: J. Neurophysiol., 1958, 21, 589.

101. Lajtha A. J.: Neurochemistry, 1958, 2, 208, 1959, 3, 358. — 102. Lajtha A., Berl S., Waelch H.: J. Neurochem., 1959, 3, 322. — 103. Laporte Y., Lundberg A., Oscarsson O.: Acta Physiol. Scand., 1956, 36, 175 i 188. — 104. Lembeck F.: Arch. Exp. Path. Pharm., 1953, 219, 197. — 105. Mac Lennan H.: J. Physiol., 1957, 139, 79. — 106. Lissak K., Endrőczy E., Magoun H. W.: Acta Physiol., Acad. Sci. Hungaricae, 1956, 9, 111. — 107. Longo V. G.: Experientia, 1955, 11, 76. — 108. Longo V. G.: J. Pharm. Exptl. Therap., 1956, 116, 198. — 109. Longo V. G., Silvestrini B.: Proc. Soc. Exptr. Biol., 1957, 95, 43. — 110. Lundberg A.: Acta Physiol. Scand., 1952, 26, 252.

111. Lundberg A.: Acta Physiol. Scand., 1955, 35, 1. — 112. Malcolm I. L.: Pergamon Press, 1958, 221. — 113. Malmjac J.: J. Physiol., 1955, 130, 497. — 114. Marazzi A. S.: Science, 1953, 118, 367. — 115. — Marazzi A. S., Hart E. R.: Science, 1955, 121, 365. — 116. Marazzi A. S.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, 66, 496. Am. Journ. Physiol., 1956, 185, 142. — 117. Marazzi A. S., Hart E. R., Rodriguez I. M.: Science, 1958, 127, 284. — 118. Miętkiewski E., Zielińska E., Kościółek E.: Acta Physiol. Polon. 1958, 2, 143. — 119. Milosevic M. P.: Arch. Intern. Pharmacodynam., 1956, 106, 457. — 120. Mayer S. E., Bain I. A.: J. Pharmacol., 1956, 118, 1.

121. Muschool E., Vogt M.: J. Physiol., 1958, 141, 132. — 122. Nakayama T.: Japan. J. Physiol., 1955, 5, 311. — 123. Napolitano L., Longo V. G.: Arch. Intern. Pharmacodyn., 1957, 110, 142. — 124. Ogston A. G.: J. Physiol., 1955, 128, 222. — 125. Olds J., Milner P.: J. Comp. Physiol. Psychol., 1954, 47, 419. — 126. Olds J., Killam K., Eiduson S.: W zbiorze Psychotropic Drugs, Milan, 1957. Elserier P. C. — 127. Olds J.: W zbiorze „Neuropharmacology” New York. Josiah Macy Foundation, 1957. — 128. Paasonen M. K., Vogt M.: J. Physiol., 1956, 131, 617. — 129. Palade G. E., Palay F. L.: Anat. Record., 1954, 118, 335. — 130. Pernow B.: Acta Physiol. Scand., 1953, 29, Suppl. 105.

131. Pickles V. R.: J. Physiol., 1956, 134, 484 i 1957, 138, 495. — 132. Pickford M.:

J. Physiol., 1947, 106, 264. — 133. *Pierre R., Cahn J.*: Anesthesie et Analgesie, 1956, 13, 723. — 134. *Pisano J. J., Mitama C., Udenfriend S.*: Nature, 1957, 180, 1125. — 135. *Purpura D. P., Grundfest H.*: Federat. Proc., 1956, 15, 146, J. Neurophysiol., 1956, 19, 573, 1957, 20, 494. — 136. *Purpura D. P., Girado M., Grundfest H.*: Science 1957, 125, 100, Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y., 1957, 95, 791. — 137. *Purpura D. P., Girado M., Smith T. G., Callan D. A., Grundfest H.*: J. Neurochem., 1959, 3, 238. — 138. *Rapport M. N., Green A. A., Page I. H.*: Science, 1948, 108, 329. — 139. *Richter D., Crossland I.*: Am. J. Physiol., 1949, 159, 247. — 140. *Rinaldi F., Himwich H. E.*: Arch. Neurol. Psychiatr., 1955, 73, 387 i 396.

141. *Robertson J. D.*: XX^e Congr. Internat. Physiol. Bruxelles, 1956 oraz w zbiorze Ultrastructure and Cellnar Chemistry of Neural Tissue, 1957, 1. — 142. *de Robertis E. R. T., Bennet H. S.*: J. Biophysic. Biochem. Cytology, 1955, 1, 47. — 143. *Romanowski W.*: Materiały Sympozjum P. T. F. „Neurohormony”, Zakopane 17—18 paźdz., 1958 r. — 144. *Rothlin E.*: Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, 66, 668. — 145. *Rothballe A. B.*: EEG a. Clin. Neurophysiol., 1956, 8, 603. — 146. *Roy I. E., Wenzel E. M., Tschirgi R. D.*: J. Pharmacol., Exp. H. Therape, 1958, 123, 193. — 147. *Sacchi, Garello, Dolce Bonamini*: J. Physiol. Cyt. wg Levy, 1957, 4, 879. — 148. *Salmoiraghi G. C., Sollero L.*: J. Pharmacol. Exp. Therap., 1956, 117, 166. — 149. *Schneider I. A.*: Am. J. Physiol., 1955, 73, 387. — 150. *Schneider I. A., Plummer A. I.*: Ann. N. Y. Acad. Sci., 1955, 61, 17.

151. *Shaw E., Woolley D. W.*: J. Pharm. Exptl. Therap., 1954, 111, 43 i 1956, 116, 164. — 152. *Sherrington C. S.*: „The Integrative Action of the Nervous System.”. 1906. — 153. *Shore P. A., Brodie B. B.*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1956, 94, 433. — 154. *Shore P. A., Olin I. S., Brodie B. B.*: Feder. Proc., 1957, 16, 335. — 155. *Shore P. A., Pletscher A., Tomich E. G., Carlsson A., Kuntzmann R., Brodie B. B.*: Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, 66, 609. — *Stern P., Dobric V.*: W zbiorze Psychotropie Drugs. Elsevier, Milan, 1957, str. 448. — *Tallan H. R., Moore S., Stein W. H.*: J. Biol. Chem., 1954, 24, 927. — 156. *Tasaki J.*: „The Nervous Transmission, Springfield”, 1953. — 157. *Taylor R. D., Page H. I.*: Circulation, 1951, 4, 563. — 158. *Frendelenburg U.*: Circulation Research, 1957, 5, 105. — 159. *Frendelenburg U.*: J. Physiol., 1957, 135, 66. — 160. *Trzebski A.*: Bull. Ac. Polon. Sci., 1956, 4, 151.

161. *Trzebski A., Jung M.*: Bull. Ac. Polon. Sci., 1958, 9, 393. — 162. *Trzebski A.*: Materiały Sympozjum P. T. F. „Neurohormony”, Zakopane 17—18 paźdz., 1958. — 163. *Trzebski A., Jung M.*: Materiały Sympozjum P. T. F. „Neurohormony”, Zakopane 17—18 paźdz., 1958. — 164. *Twarog B., Page I. H.*: Amer. J. Physiol., 1953, 175, 167. — 165. *Udenfried S., Weissbach H., Bogdański D. F.*: J. Biol. Chem., 1957, 224, 803. — 166. *Udenfriend S., Weissbach, Bogdański D. F.*: Ann. N., Y. Acad. Sci., 1957, 66, 602. — 167. *Udenfriend S., Weissbach H.*: W zbiorze „5-Hydroxytryptamine” Ed. Lewis G. Pergamon Press, 1958. — 168. *Vogt M.*: J. Physiol., 1954, 123, 451. — 169. *Vogt M.*: Nature, 1957, 179, 300. — 170. *Vogt M., Gunn C. G., Sawyer Ch.*: Neurology, 1957, 7, 559.

171. *Vogt M.*: W zbiorze „5-Hydroxytryptamine Pergamon Press, 1958. 209. — 172. *Walawski I.*: Acta Physiol. Polon., 1955, 3, 251. — 173. *White R. P., Sanson F. E.*: Am. J. Physiol., 1956, 186, 271. — 174. *White R. P.*: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1956, 93, 113. — 175. *White R. P., Himwich H. E.*: J. Neurophysiol., 1957, 20, 81. — 176. *Wooley D. W., Shaw E. N.*: Science, 1954, 119, 587. — 177. *Wooley D. W., Shaw E. N.*: Ann. N. Y. Acad. Sci., 1957, 66, 649. — 178. *Zawadzki Br.*: Polski Tyg. Lek., 1956, R. 1, 48. — 179. *Zawadzki Br.*: Acta Physiol. Polonia, 1955, 1, 15. — 180. *Zeller E. A., Birkhaü ser H., Mislín H., Wenk M.*: Helv. Chimica Acta, 1939, 22, 138.

181. *Zetler G.*: Arch. Exp. Pathol. Pharmacol., 1956, 228, 513.