

Ю.С. Медникова, Ф.В. Копытова, М.Н. Жадин

**СПОНТАННАЯ ИМПУЛЬСАЦИЯ И ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ
НЕЙРОНОВ НА ЛОКАЛЬНОЕ ВОЗБУЖДЕНИЕ ДЕНДРИТОВ**

*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, г. Москва
Институт биофизики клетки, г. Пущино*

Реферат. На срезах париетальной коры морских свинок изучены спонтанная активность и реакции нервных клеток на микроаппликацию возбуждающих аминокислот (глутамата и аспартата) и ацетилхолина к соме и дендритам. Сделан вывод, что основное разнообразие функциональных свойств корковых нейронов связано с разнообразием дендритных свойств, которые в значительной степени регулируются ацетилхолином, что и приводит к смене уровня фоновой активности.

Ключевые слова: спонтанная импульсация, реакция нейронов, ацетилхолин.

Ю.С. Медникова, Ф.М.Копытова, М.Н. Жадин

ЭЧКЕ С•Б•ПЛ•Р АРКАСЫНДА КИЛЕП ЧЫККАН
НЕРВ ЯРСЫНУЛАРЫ •М ДЕНДРИТЛАРНЫ• •ИРЛЕ
ЯРСЫНУЫНА НЕЙРОННАР РЕАКЦИЯСЕНЕ•
ҮЗЕНЧ•ЛЕКЛ•РЕ

Ди•гез ду•гызларының париеталь кабығы кисеменд•
нерв құз•н•кл•рене• ярсытықч амикокислоталар
микроаппликациясен• (глутамата h•м аспартата) h•м
ацетилхолинны• т•нг• h•м дендритларга эчке с•б•пл•р
аркасында булган активлығы h•м реакциял•ре өйр•нелде
Шундый н•ти• ясалды: ми кабығы нейроннарын
хас функциональ сыйфатларыны• құптерлелеге құп
очракча ацетилхолин ярд•менд• көйл•нүче дендрит
үзлекл•рене• құптерле булуына б•йле ик•н h•м бу ис•
гомуми торыштагы активлық д•р•ссеңе• алышынып
торуына китеր•.

Төп төшенч•л•р: эчке с•б•пл•р аркасында килемп чыккан
нерв ялқынсынулыры (спонтанная импульсация), нейроннар
реакциясе, ацетилхолин.

Yu.S. Mednikova, F.V. Kopitova, M.N. Zhadin

SPONTANEOUS PULSING AND PECULIARITIES
OF NEURON REACTIONS ON DENDRITE LOCAL
EXCITATION

There had been studied spontaneous activity and nerve cell reactions on stimulating amino acid microapplication (glutamate and aspartate) and acetylcholine to soma and dendrites on parietal cortex section in guinea pigs. A conclusion was made that major diversity of functional qualities in cortical neurons is connected with variety of dendrite qualities, which are greatly regulated by acetylcholine, causing a level change of background activity.

Key words: spontaneous pulsing, neuron reaction, acetylcholine.

Основными возбуждающими медиаторами в коре являются глутамат или его агонист аспартат — бикарбоновые аминокислоты, приводящие к быстрой деполяризации клеточных мембран за счет увеличения ионной проницаемости преимущественно для ионов Na^+ [7]. Несмотря на то что практически все нервные клетки коры отвечают возбуждением на ионофоретическое подведение глутамата [8], далеко не все обладают спонтанной импульсацией. Последний параметр, кроме того, является очень вариабельным, и у отдельного нейрона может изменяться более чем в 10 раз при смене функционального состояния, например при разном уровне бодрствования [5] или под влиянием температурного фактора [4]. В термобиологических экспериментах было обнаружено, что возникновение спонтанной активности у «молчавших» нейронов или ее переход на более высокий уровень у фоновоактивных нервных клеток сопряжен с появлением или усилением активационной реакции на ацетилхолин [4] — возбуждающий медиатор регуляторного типа, основной эффект которого состоит в блокаде K^+ проницаемости [8, 10].

Разнообразие значений спонтанной активности для разных элементов коры и ее регулирование в широком диапазоне в процессе функционирования могут лежать в основе многоэтапности проявления физиологических состояний, что было отмечено В.М. Бехтеревым при анализе клинических и экспериментальных данных [1].

Целью настоящего исследования было выявление, какие параметры клеточных реакций на возбуждающие воздействия наиболее вариабельны и как они могут быть связаны с уровнем и диапазоном изменчивости спонтанной импульсации у разных корковых нейронов. Решение этой задачи потребовало изучения не только функциональных характеристик клеточных

тел, но и возможностей дендритов по формированию импульсной активности нейронов.

Эксперименты проводились на переживающих срезах париетальной коры морских свинок (200—250 г) толщиной 500 мкм. Срезы инкубировали в стандартных условиях при температуре 34–35°C. Импульсную активность регистрировали экстраклеточно 3-канальными стеклянными микроэлектродами (общий диаметр — от 7,5 до 8 мкм) от клеточных тел нейронов V слоя. Для стимуляции дендритных локусов второй независимый микроэлектрод помещали в область предполагаемого дендритного дерева. В качестве стимулятора сомы и дендритов использовали короткое (обычно 1—1,5 с) ионофоретическое подведение возбуждающих аминокислот — глутамата или аспартата (1М раствор, ток фореза 80 нА) из форезных каналов тех же электродов, причем их нахождение в непосредственной близости от дендритного локуса идентифицировали с помощью появления спайкового разряда на дендритную аппликацию. Поиск дендритных локусов таким образом происходил вслепую и требовал довольно длительной процедуры тестирования. Еще одним воздействием на сому было ионофоретическое подведение

дендритных локусов. Концентрация ацетилхолина при его ионофоретическом воздействии несколько превышала суммарное количество ацетилхолина, которое характеризует его спонтанное выделение из холинергических окончаний в коре [4].

Спонтанную активность и вызванные локальным подведением медиаторов импульсные ответы обрабатывали с помощью IBM PC-286. Подсчитывали средний уровень спонтанной активности, а также латентный период и величину реакций на стимуляцию сомы и дендритов. Латентный период определяли как длительность временного интервала от начала фореза до увеличения частоты импульсации, равной половине от максимально развивающегося эффекта. Среднюю текущую частоту определяли по трем последовательным бинам длительностью 250 и 500 мс.

Зарегистрирована активность 145 нейронов париетальной коры. Частота спонтанной импульсации исследованных клеток варьировалась в пределах от 0 до 21 имп./с. 45 (31%) нейронов характеризовались отсутствием спонтанной активности (0 имп./с).

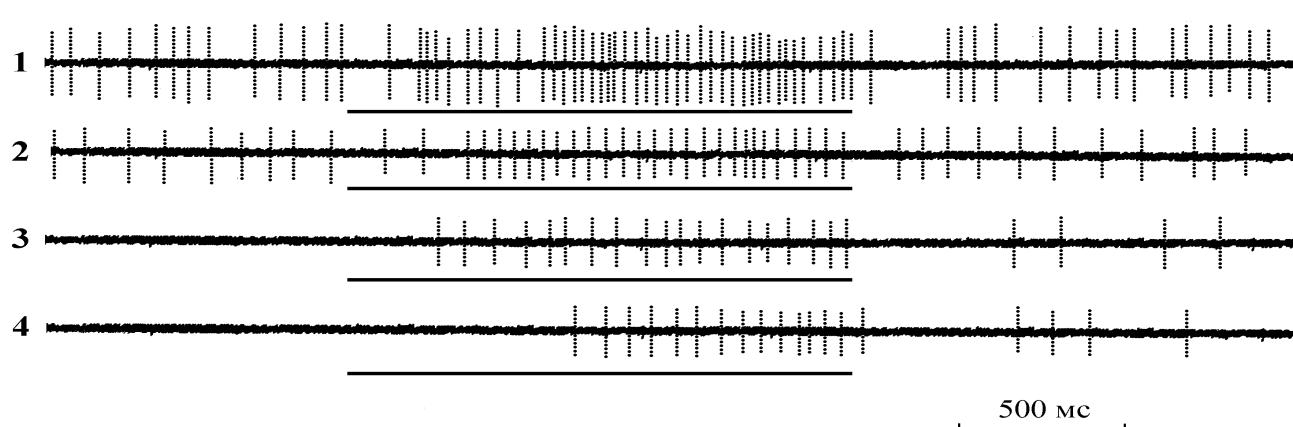


Рис. 1. Примеры реагирования разных нейронов париетальной коры на микроионтофоретическое подведение аспартата к соме: 1 и 2 — реакции двух спонтанно активных нейронов; 3 и 4 — реакции двух нейронов, неактивных в фоне. Продолжительность тока фореза отмечена чертой под каждой осциллограммой. Величина тока фореза — 80 нА (отрицательный полюс внутри электрода).

ацетилхолина (4,5 с; 60—80 нА из 2М раствора), которое осуществлялось из 3-го канала соматического микроэлектрода. Параметры тока ионофореза возбуждающих аминокислот, использованные в эксперименте, соответствовали указанным в работе [11] для стимуляции отдельных

активационные реакции на подведение глутамата или аспартата к соме нервных клеток обнаружены у всех тестированных нейронов независимо от наличия у них спонтанной импульсации. На рис.1 представлены примеры реагирования разных нейронов на ионофоретическую аппликацию аспартата к их

СПОНТАННАЯ ИМПУЛЬСАЦИЯ И ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ НЕЙРОНОВ НА ЛОКАЛЬНОЕ ВОЗБУЖДЕНИЕ ДЕНДРИТОВ

клеточным телам. Как видно из рис. 1, импульсный ответ на стимуляцию является дополнительным к существующему уровню спонтанной активности, поэтому у высокочастотных нейронов (рис.1:1) и у спонтанно неактивных клеток (рис.1:3,4) ответ часто характеризовался превышением спонтанной импульсации на одну и ту же величину. Вместе с тем для всей популяции нейронов увеличение частоты импульсации над фоновым уровнем при активации менялось в пределах от 4 до 56 имп./с.

Манна—Уитни; $\alpha < 0,05$). Вместе с тем выраженность ответов на стимуляцию дендритов при тех же значениях тока отличалась большим разнообразием, поскольку ряд дендритных точек при аппликации к ним возбуждающих аминокислот не возбуждал ответа сомы, что никогда не наблюдалось при соматической аппликации медиаторов. Наиболее показательным в плане выявления функциональной неоднородности дендритов корковых нейронов

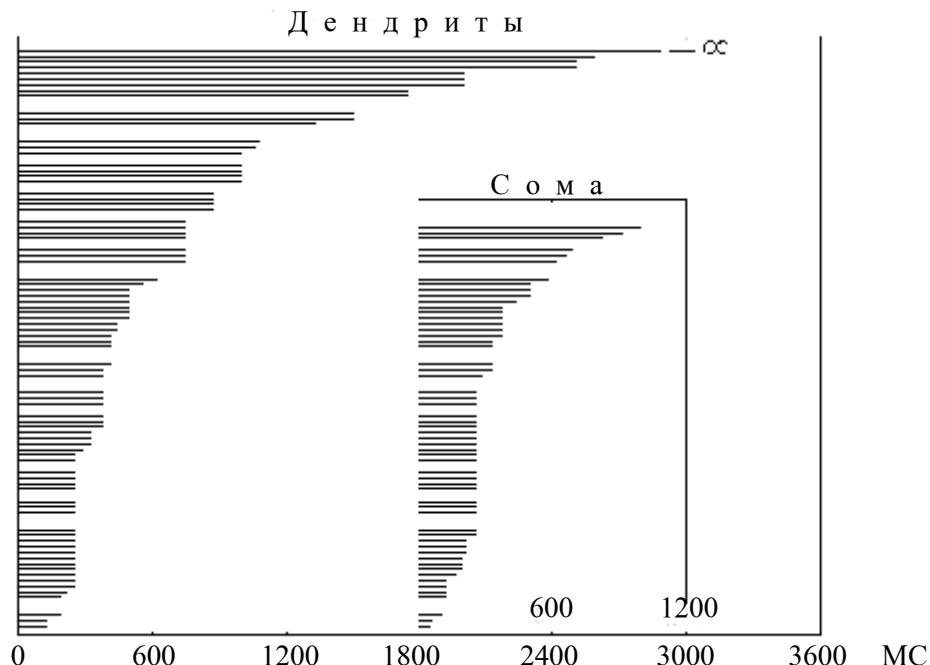


Рис. 2. Длительность латентных периодов импульсных реакций, вызванных аппликацией возбуждающих аминокислот (глутамата и аспартата) к соме и дендритным локусам.

Латентные периоды отдельных импульсных реакций изображены в виде горизонтальных отрезков справа от вертикальной оси. На основной диаграмме представлены латентные периоды ответов на дендритную аппликацию медиаторов, на вставке – латентные периоды ответов на аппликацию медиаторов к соме. Величины латентных периодов (мс) указаны внизу на горизонтальной оси. В диаграмму вошли нейроны, тестированные микроаппликацией аспартата и глутамата токами одинаковой величины (70–80 нА).

В отличие от реактивности нейронов к соматической аппликации возбуждающих аминокислот, ответы клеток на дендритную стимуляцию отличались меньшей интенсивностью, что следует из показателя превышения вызванной частоты над фоновой, который варьировал от очень низких значений (0-1) до 36 имп./с. Следовательно, среди дендритных локусов встречались такие, стимуляция которых практически не вызывала ответа сомы. В целом при аппликации возбуждающих аминокислот стандартным током 80 нА реактивность нейронов на дендритную стимуляцию была в 1,5-2 раза ниже, чем на соматическую (критерий Уилкоксона—

оказался анализ латентных периодов вызванных ответов на дендритную и соматическую аппликацию возбуждающих аминокислот (рис.2). На рис. 2 отчетливо видно, что ответы на соматическое подведение глутамата и аспартата возникают с относительно короткими и мало вариабельными латентными периодами, тогда как ответы на дендритную стимуляцию по величине латентных периодов значительно более разнообразны. У некоторых нервных клеток латентные периоды реакций дендритного происхождения достигают значительных величин, не наблюдаемых при подведении возбуждающих аминокислот к соме (рис.2).

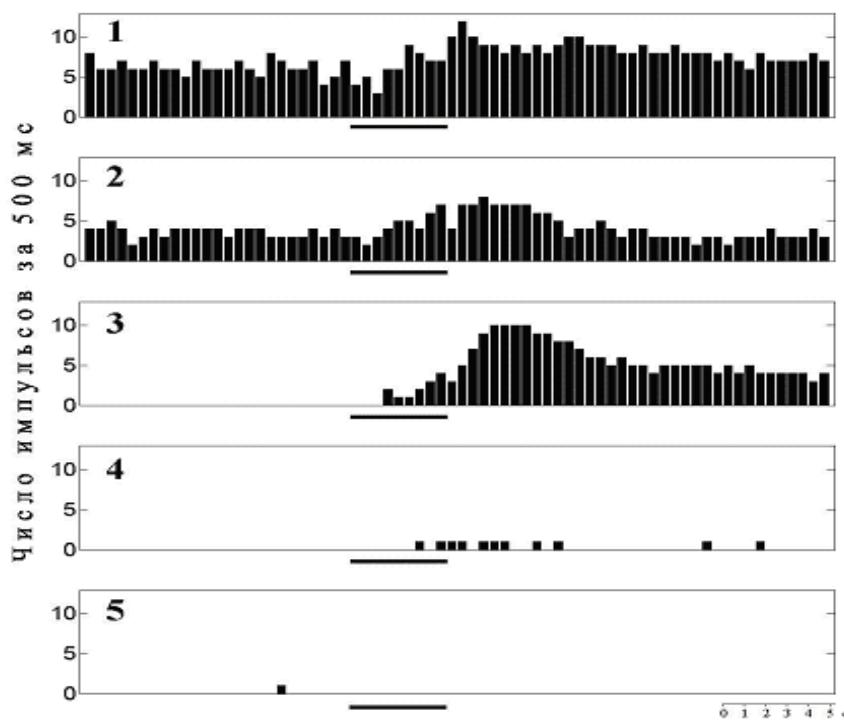


Рис. 3. Примеры реагирования разных нейронов париетальной коры на микроинъекционное подведение ацетилхолина к соме: 1 и 2 — реакции двух спонтанно активных нейронов; 3, 4, 5 — реакции трех неактивных в фоне нейронов. Активность нейронов представлена в виде перистимульных гистограмм с бином 500 мс. Продолжительность тока фореза ацетилхолина отмечена чертой под каждой гистограммой. Сила тока фореза — 70 нА (положительный полюс внутри электрода).

Реакции нейронов на аппликацию ацетилхолина к соме позволили обнаружить, что «молчание» нервные клетки, мало отличающиеся от спонтанно активных по выраженности реакций на аспартат и глутамат, представляют собой на самом деле очень неоднородную группу. На рис.3 продемонстрированы реакции на ацетилхолин у нейронов, имеющих разный уровень спонтанной активности, причем у трех из них импульсная активность в фоне отсутствовала. Хорошо видно, что у «молчаний» нейронов по реакции на ацетилхолин выявляется значительная неоднородность: от реакции с приращением 39 имп./с до полного отсутствия ответа. Спонтанно активные нейроны по реактивности на ацетилхолин, с одной стороны, представляют более однородную группу (приращение 12—20 имп./с), а с другой — отвечают значительно менее интенсивно, чем реагирующие на ацетилхолин спонтанно неактивные нейроны (рис.3: 2 и 3). Обращает на себя внимание медленное развитие и длительное течение реакций на ацетилхолин у всех тестированных нейронов, что свидетельствует об иной природе возбуждающего эффекта по сравнению с эффектом возбуждающих аминокислот (рис.3 и 1).

Проведенное исследование позволило выявить функциональную неоднородность корковых нейронов по некоторым параметрам. По реакциям на подведение к соме нервных клеток возбуждающих медиаторов — глутамата и аспартата (рис.1) удается обнаружить различие в интенсивности возбуждающих эффектов, которое хорошо согласуется с разными значениями входного сопротивления у разных клеток коры [6]. Вместе с тем разнообразие, связанное с вариабельностью входных параметров клеточных тел, значительно уступает разнообразию ответов на локальную дендритную стимуляцию, что наиболее демонстративно проявляется при сравнении латентных периодов возбуждающих реакций соматического и дендритного происхождения (рис.2).

Холинергическое воздействие, как это было показано ранее [3], независимо от пункта его приложения улучшает параметры дендросоматического проведения возбуждения за счет повышения удельного сопротивления клеточных мембран [10]. Этот эффект, мало влияющий на входные параметры сомы [3], возникает как следствие многокаскадных внутриклеточных метаболических реакций, конечный результат

СПОНТАННАЯ ИМПУЛЬСАЦИЯ И ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИЙ НЕЙРОНОВ НА ЛОКАЛЬНОЕ ВОЗБУЖДЕНИЕ ДЕНДРИТОВ

которых состоит в блокаде К⁺ каналов практически по всей мембране нейронов [2]. Вмешательством метаболических процессов следует объяснить как продолжительные латентные периоды реакций на ацетилхолин, так и длительное повышение импульсной активности нейронов (рис.3), представляющее собой не что иное как рост спонтанной импульсации вследствие возросшей эффективности проникновения в сому стационарного потока дендритных ВПСП, возникающих при случайном срабатывании многочисленных глутаматергических синапсов на мембранный поверхности дендритов. Различие реакций на ацетилхолин у разных нейронов, по-видимому, связано с разнообразием их мембранных свойств, что еще раз свидетельствует о том, что функциональная неоднородность клеточного состава коры, определяемая по параметру спонтанной импульсации, связана со значительным разнообразием проводящей функции дендритов корковых нейронов, а ацетилхолин является ее естественным регулятором. Таким образом, неоднородность клеток коры, связанная с разной эффективностью дендросоматического проведения и разная степень коркового холинергического обеспечения, характерная для разных функциональных состояний [9], создают необходимые предпосылки для тонкого регулирования суммарного потока спонтанной импульсации в каждом конкретном случае, что может явиться базой для многоэтапности адаптивных возможностей мозга [1].

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 07-04-00692а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Бехтерев В.М. Объективная психология. — М., 1991.
 2. Зеймаль Э.В., Шелковников С.А. Мускариновые холинорецепторы. — Л., 1989.
 3. Медникова Ю.С., Карпун С.В., Жадин М.Н. // Журн. высш. нерв. деят. — 2002. — Т.52. — №4. — С.479—488.
 4. Медникова Ю.С., Пасикова Н.В. // Росс. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. — 2004. — Т. 90. — №2. — С.193—201.
 5. Тимофеева Н.О., Семикопная И.И., Илиева Н.Ю. // Успехи современной биологии. — 1999. — Т.119. — №3. — С.311—320.
 6. Шульговский В.В. Функциональные особенности корковых нейронов как возможная основа пластичности. / Пластичность нервных клеток (современное состояние вопроса): Сб.статей / Под ред. Б.И.Котляра. — М., 1977. — С. 97—125.
 7. Kaczmarec L., Kossut M., Skangiel-Kram ska J. // Physiol.Reviews. — 1997. — Vol.77. — №1. — P. 217—255.
 8. Krnjević K. // Physiol. Reviews. — 1974. — Vol. 54. — №2. — P.418—540.
 9. Marrosu F., Portas Ch., Mascia M.S. et al. // Brain Res. — 1995. — Vol. 671.— №2. — P. 329—332.
 10. McCormick D.A., Prince D.A. // J. Physiol. — 1986. — Vol.375. — P.169—194.
 11. Storm J., Hvalby ІІІ. // Exptl. Brain Res. — 1985. — Vol.60. — №1. — P.10—18.

Поступила 26.02.07.