

В. В. ШЕРСТНЕВ

**ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ СПЕЦИФИКИ СИНАПТИЧЕСКОЙ
ПЕРЕДАЧИ НА КОРКОВЫХ НЕЙРОНАХ МЕТОДОМ
МИКРОИОНОФЕРЕЗА**

(Представлено академиком П. К. Анохиным 15 VII 1970)

Исходной предпосылкой для настоящей работы послужило представление П. К. Анохина о том, что приходящие к нейрону качественно различные возбуждения вызывают на его постсинаптических мембранах специфические гетерохимические процессы, являющиеся триггерными механизмами, возбуждающими дальнейшие специфические ферментативные ценные процессы в цитоплазме нейрона (¹). Эта гипотеза является одним из основных положений теории функциональной системы, так как именно стадия химического интегрирования, через которую неизбежно проходят все возбуждения, пришедшие в данный момент к первой клетке, и определяет кодирование конечного результата в виде специфической конфигурации возбуждений на аксоне.

Выдвинутое представление нашло себе подтверждение в ряде работ сотрудников нашей лаборатории (^{2, 4, 5}). Однако весь вопрос в целом требует дальнейшего тщательного и углубленного изучения с использованием более тонких и адекватных методических приемов. Таким методом и является микроионофоретическое воздействие на нервную клетку.

Задачей нашего исследования явилось изучение химической специфики синаптической передачи возбуждений различного качества на клетках коры мозга. Для решения поставленной задачи и был использован метод микроионофореза, который позволяет дозированно вводить биологически активные вещества в зону одной нейронной единицы и одновременно регистрировать ее спонтанную и вызванную импульсную активность.

Эксперименты проводились в условиях острого опыта на ненаркотизированных и необездвиженных кроликах, фиксированных в стереотаксическом приборе. Для микроионофоретического введения биологически активных веществ (ацетилхолинхлорид 3 М, Na-моносоль L-глутамата 1 М, атропин сернокислый 1 М) и внеклеточной регистрации активности отдельных нейронов применялись 3 — 5-канальные стеклянные микроэлектроды (общий диаметр кончика 3 — 6 м). Изготовление, заполнение и тестирование микроэлектродов производилось по методу, описанному Кертисом (¹⁰). Указанные выше биологически активные вещества вводились посредством токов 10 — 130 на, длительность введения варьировалась в пределах 5 — 90 сек. Центральный и один из боковых каналов микроэлектрода заполнялись 3 М раствором NaCl и служили, соответственно, для регистрации активности нейрона и контроля действия тока.

В качестве раздражителей применялись одиночные световые вспышки и серии вспышек (длительность вспышки 50 мсек.), громкие тона разной высоты (400—1200 гц) и звуковые щелчки, а также электрокожное раздражение контрлатеральной нижней конечности (9 — 16 в, частота 20 — 30 гц, длительность 400 — 600 мсек.). Регистрация производилась на магнитописец «Магнетор IV — VII». Редукция скорости записи в 8 раз позволяла воспроизводить спайковую активность на чернилопишущем электроцефалографе. Полученные данные обрабатывались путем построения усредненных постстимуляционных гистограмм (периоды счета 50 мсек., число

реализаций 5 — 10). Оценка действия микроионофоретически вводимых веществ производилась путем построения непрерывных гистограмм (периоды счета 1 сек.).

В работе представлены результаты опытов, проведенных на 28 кроликах. В первой серии экспериментов исследовались реакции 100 нейронов зрительной коры в ответ на предъявление различных раздражителей, а затем определялась чувствительность тех же клеточных единиц к микроионофоретически введенному ацетилхолину (АЦХ). Как показал анализ, из обследованных нами 100 нейронов 56 нейронов отвечали на световой раздражитель, 45 — на звук, 48 клеток реагировали на электрокожное раздражение, а 26 из исследованных клеточных единиц были ареактивны. Эти данные вполне сопоставимы с результатами авторов, работающих в сходных экспериментальных условиях (6, 7, 11, 13). Чувствительными к микроионофоретически введенному АЦХ оказалось 55 нейрональных единиц, 45 нейронов не реагировали на введение АЦХ. Нейроны, чувствительные к АЦХ, как

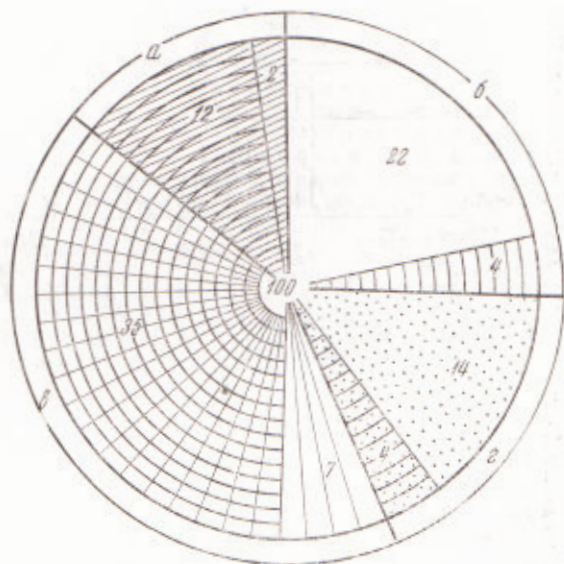


Рис. 1. *a* — нейроны, реагирующие на свет; *b* — ареактивные нейроны, *c* — нейроны, реагирующие на свет и раздражения других модальностей; *d* — нейроны, реагирующие на звук и (или) ЭКР; концентрической штриховкой обозначены нейроны, чувствительные к АЦХ

правило, реагировали на введение этого вещества характерным увеличением частоты спайковых разрядов, но у трех из них АЦХ вызывал значительное снижение частоты фоновой активности. Данные различных исследователей о количестве холинчувствительных клеток коры мозга противоречивы (12, 14, 16,). По-видимому, это связано с видом применявшегося наркоза, параметрами микроионофоретического введения вещества, условиями экспериментальной ситуации, видом экспериментальной модели и, может быть, даже проекционной принадлежности нейрона.

Сопоставление чувствительности нейронов к АЦХ с их способностью реагировать на раздражители различной модальности позволило выявить некоторые закономерности (рис. 1). Оказалось, что имеется статистически достоверная корреляция (по критерию χ^2 $p < 0,0001$) между чувствительностью нейронов зрительной коры АЦХ и их способностью реагировать на световой раздражитель. Нейрональные единицы, не реагирующие на свет, но отвечающие на раздражения других модальностей, указанной корреляции не обнаружили ($p \geq 0,850$).

Результаты обработки показали также, что выявленная способность связана лишь с модальностью раздражения (свет) и не зависит от способности нейрона к конвергенции ($p < 0,0001$). Сходные данные получены при микроионофоретическом изучении нейронов сенсомоторной коры (5). В работе было показано, что активирующее действие АЦХ в этой зоне коры развивается преимущественно во время передачи адекватного для этой зоны возбуждения, т. е. тактильно-болевого возбуждения.

В следующей серии экспериментов (50 нейронов) мы изучали характер изменения ответов нейронов зрительной области на различные стимулы

до и после микроионофоретического введения АЦХ, атропина и Na-моносоли L-глутамата. Некоторые из исследованных нейтрональных элементов приобретали способность отвечать на световые раздражения только после введения АЦХ. В то же время подведение к нервным клеткам глутаминовой кислоты, которая оказывает активирующее действие на нейроны коры, не вызывает такого эффекта.

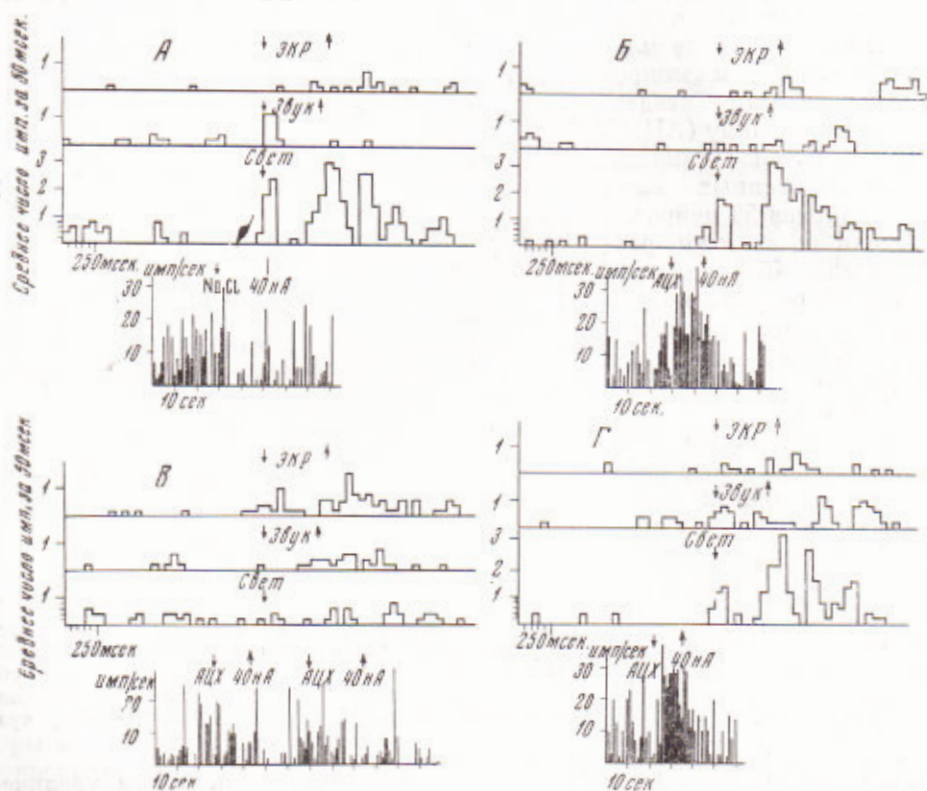


Рис. 2. Ответные реакции нейрона зрительной коры на раздражения различной модальности до и после микроионофоретического введения атропина (40 на, 120 сек.). А — до микроионофоретического воздействия, внизу — реакция клетки на введение NaCl (контроль); Б — через 40 сек. после введения NaCl, внизу — реакция нейрона на введение АЦХ; В — через 40 сек. после введения атропина, внизу — см. Б; Г — через 20 мин. после введения атропина, внизу — см. Б

Особый интерес представляют эксперименты с микроионофоретическим введением атропина. Оказалось, что подведение к нервным клеткам этого холинолитика избирательно блокирует ответ холинчувствительного нейрона на световой импульс (рис. 2 А, Б, В). После прекращения введения атропина иногда мы наблюдали восстановление ответной реакции на свет (рис. 2Г). Избирательная блокада и последующее восстановление ответа нервной клетки на световое раздражение проходили параллельно с изменением чувствительности этого нейрона к АЦХ (рис. 2). Нужно отметить, что подобные феномены описаны при микроинъекциях АЦХ и атропина к нейронам кохлеарного ядра (9).

Таким образом, изложенные выше факты позволяют нам сделать ряд выводов. 1. Существует специфика нейрохимических постсинаптических процессов для возбуждений различной модальности на нейронах коры мозга. 2. Холинэргические механизмы, блокирующиеся атропином, преимущественно действуют на тех субсинаптических мембранах, которые связаны с передачей возбуждений, адекватных для соответствующей зоны коры. По-видимому, эта зональная специфика определяется генетически

обусловленным функциональным значением той или иной локализации нейрона и его исторической ролью в обеспечении определенных сенсорных функций.

Первый Московский медицинский институт
им. И. М. Сеченова

Поступило
19 VI 1970

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ П. К. Анохин, Журн. выпш. нервн. деят., 12, 3, 379 (1962). ² Ф. Ата-Мурадова, IV Конфер. по вопросам электрофизиологии нервной системы, Ростов, 1963, стр. 12. ³ Ф. Ата-Мурадова, Функциональная нейрохимия ЦНС. Матер. I Всесоюзн. симпозиума, Баку, 1966, стр. 21. ⁴ К. М. Каграманов, Бюлл. эксп. биол. и мед., 61, 3, 3 (1966). ⁵ Г. Н. Олейник, В сборн. Современные методы морфологических исследований мозга, М., 1969, стр. 72. ⁶ В. Г. Скребидский, Л. Л. Воронин, ДАН, 160, № 4, 972 (1965). ⁷ М. Я. Рабинович, Л. Л. Воронин, В. Г. Скребидский, В кн. Интегральная деятельность нервной системы в норме и патологии, М., 1968, стр. 234. ⁸ Л. М. Чуппина, Физиол. журн. СССР, 53, 4, 385 (1967). ⁹ S. D. Comis, J. C. Whitfield, J. Neurophysiol., 31, 1, 62 (1968). ¹⁰ D. R. Curtis, In: Physical Techniques in Biological Research, 5, N. Y., 1964, p. 144. ¹¹ I. M. Fuster, Science, 133, 2011 (1964). ¹² K. Krnjević, J. W. Phyllis, Experientia, 17, 469 (1961). ¹³ K. Murata, H. Cramer, P. Bach-y-Rita, J. Neurophysiol., 28, 6, 1223 (1965). ¹⁴ J. W. Phyllis, D. H. York, Brain. Res., 10, 3, 297 (1968). ¹⁵ M. Randić, R. Siminoff, D. W. Straughan, Exp. Neurology, 9, 3, 236 (1964). ¹⁶ R. Sphelmann, J. Neurophysiol., 26, 1, 127 (1963).