

А. И. ШАПОВАЛОВ, Г. Г. КУРЧАВЫЙ

**ВЛИЯНИЕ ТРАНСМЕМБРАННОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ
И ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ ИНЪЕКЦИИ ТЕТРАЭТИЛАММОНИЯ
НА РАЗЛИЧНЫЕ СИНАПТИЧЕСКИЕ ВХОДЫ МОТОНЕЙРОНА
ОБЕЗЬЯНЫ**

(Представлено академиком Е. М. Крепом 14 VI 1974)

Механизмы генерации возбуждающих постсинаптических потенциалов (в.п.с.п.) в нейронах центральной нервной системы позвоночных до сих пор не выяснены. Это в значительной степени обусловлено сложной геометрией нервной клетки и отсутствием точных сведений о локализации соответствующих синаптических входов на ее мембране. Анализ в.п.с.п., вызываемых в мотонейронах кошки с мышечных афферентов группы Ia, на

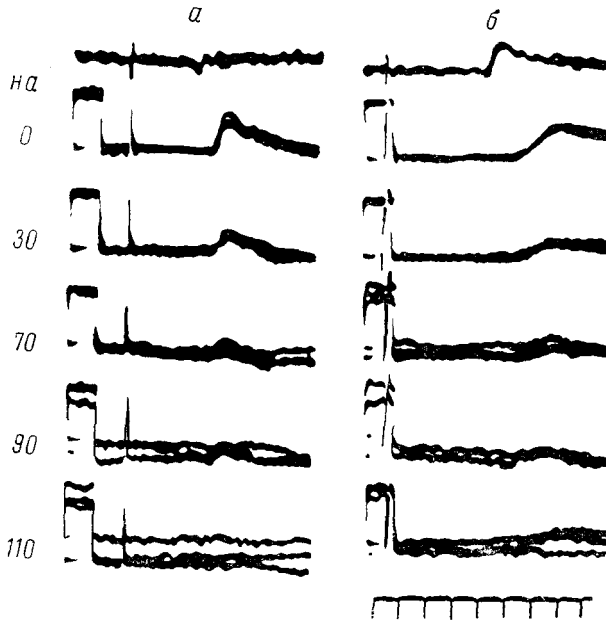


Рис. 1. Изменения амплитуды моносинаптических к.я. в.п.с.п. (а) и м.к. в.п.с.п. (б) во время действия деполаризирующего тока. Верхняя запись — запись нисходящей волны, отводимой от дорсальной поверхности спинного мозга. Последующие записи — внутриклеточное отведение от одного и того же мотонейрона. Калибровочный импульс 2 мв. Отметка времени 1 мсек. Цифры указывают силу пропускаемого через клетку деполаризирующего тока

абстрактной математической модели приводит к заключению, что более медленное временное течение в.п.с.п. обусловлено удалением синапсов от тела клетки (1). Данные, полученные на аналоговой модели конкретных

мотонейронов, окрашенных внутриклеточной инъекцией проционного желтого, свидетельствуют о том, что временное течение в.п.с.п. зависит не только от расстояния синаптического входа от тела клетки, но и от его локализации на определенном дендрите (²). С другой стороны, информация о механизмах активации постсинаптической мембраны и о локализации синаптического входа может быть получена в экспериментах с трансмембранной поляризацией, которая должна более эффективно влиять на проксимально расположенные синапсы и соответственно на генерируемые ими в.п.с.п.

У обезьян на одни и те же мотонейроны приходят прямые возбуждающие воздействия с афферентных волокон группы Ia (Ia в.п.с.п.) моторной коры (м.к. в.п.с.п.) и красного ядра (к.я. в.п.с.п.) (³). Указанные в.п.с.п. четко отличаются друг от друга по продолжительности восходящей фазы (^{3, 4}), что обеспечивает условия для исследования зависимости между их временным течением и чувствительностью к трансмембранной поляризации.

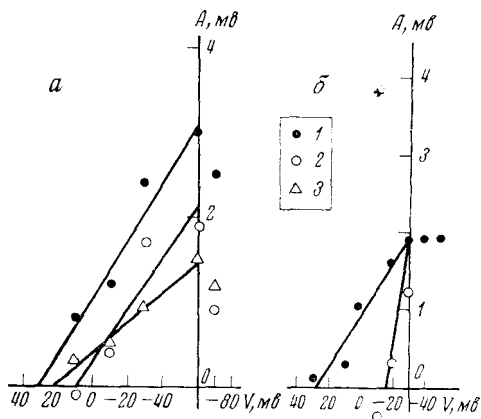


Рис. 2. Зависимость амплитуды моносинаптических в.п.с.п. (A) от мембранного потенциала V до (а) и после (б) внутриклеточной инъекции ТЭА. 1 — Ia в.п.с.п., 2 — м.к. в.п.с.п., 3 — к.я. в.п.с.п. Линии проведены по методу наименьших квадратов, их пересечение с осью абсцисс обозначает теоретический потенциал равновесия

Опыты были поставлены на 22 макаках-резусах, наркотизированных нембуталом. Внутриклеточная регистрация, пропускание тока через мембрану и инъекция ионов проводилась с помощью одно- или двухканальных микропипеток, заполненных 2M раствором цитрата калия, 3M раствором хлорида калия или 1M раствором хлорида тетраэтиламония (ТЭА). 2-канальные электроды позволяли инъецировать ионы путем пропускания тока между каналами, мицую мембрану.

В большинстве мотонейронов временное течение моносинаптических в.п.с.п. разных типов сильно отличалось. Время нарастания м.к. в.п.с.п., измеренное в 67 клетках, составляло 0,7–2 мсек., в среднем $1,2 \pm 0,06$ мсек.; к.я. в.п.с.п. 0,3–1,1 мсек., в среднем $0,61 \pm 0,08$ мсек., и Ia в.п.с.п. 0,3–1,5 мсек., в среднем $0,91 \pm 0,1$ мсек. Различия между средними величинами были статистически достоверны: между Ia и к.я. в.п.с.п. $P < 0,02$; между к.я. и м.к. в.п.с.п. $P < 0,01$ и между Ia и м.к. в.п.с.п. $P < 0,015$.

Все моносинаптические в.п.с.п., регистрируемые с помощью микроэлектродов, заполненных цитратом или хлоридом калия, как правило, не увеличивали своей амплитуды при гиперполяризации и мало изменялись на фоне деполяризации, производимой токами менее 20–30 нА. Более сильная деполяризация всегда приводила к уменьшению амплитуды исследуемых в.п.с.п. Однако даже при деполяризующих токах силой 100–150 нА нарастающая фаза в.п.с.п. уменьшалась до нуля, но не реверсировалась. Только более поздняя фаза в.п.с.п. иногда реверсировалась. Не удалось выявить более выраженного влияния деполяризации на в.п.с.п. с быстрым временным течением как при сравнении разных входов одной и той же клетки, так и всех исследованных клеток.

Как видно на рис. 1, м.к. и к.я. в.п.с.п. одной и той же клетки, имеющие одинаковую амплитуду, но сильно отличающиеся по времени нарастания, примерно в одинаковой степени уменьшаются при трансмембранной деполяризации. Более того, во многих случаях медленные м.к. в.п.с.п. проявляли большую чувствительность к деполяризации, чем быстрые Ia и к.я.

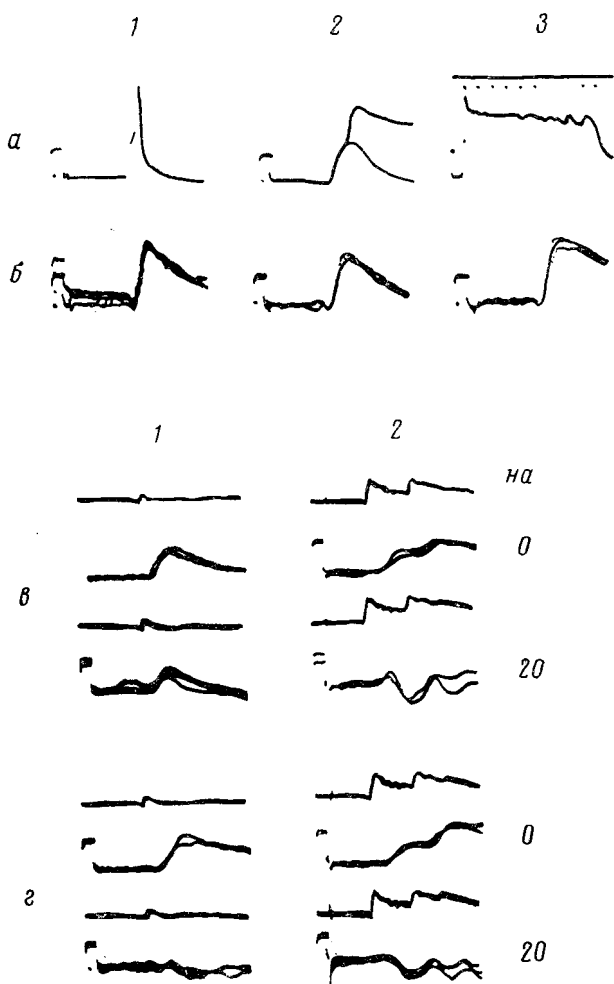


Рис. 3. Влияние внутриклеточной инъекции ТЭА на потенциалы действия и моносинаптические в.п.с.п. *a* — потенциал действия до (1) и через разные сроки после внутриклеточной инъекции ТЭА (2, 3). Отметка времени для 3–10 мсек. Калибровочные импульсы 20 мВ, 1 мсек. *б* — моносинаптические Ia в.п.с.п. того же мотонейрона до (1) и после (2, 3) инъекции ТЭА. Калибровочные импульсы 2 мВ, 1 мсек. *в* — моносинаптические Ia в.п.с.п. (1) и м.к. в.п.с.п. (2) до и во время пропускания деполаризирующего тока 20 нА. Записи сделаны до инъекции ТЭА. *г* — моносинаптические в.п.с.п. той же клетки после внутриклеточной инъекции ТЭА. На каждом кадре верхняя запись — потенциал дорсальной поверхности, нижняя — внутриклеточное отведение. Калибровочные импульсы 2 мВ, 1 мсек.

в.п.с.п. Это выявилось и при сравнении потенциала равновесия различных в.п.с.п., который определялся путем экстраполяции зависимости амплитуды в.п.с.п. от мембранного потенциала. Прямые, аппроксимирующие эту зависимость, проводились через экспериментальные точки с помощью метода наименьших квадратов. На рис. 2*a* приведен пример соотношения между амплитудами м.к., к.я. и Ia в.п.с.п. и величиной мембранного потенциала. Потенциалы равновесия каждого входа отличаются друг от друга, но не обнаруживают тенденции сдвига в сторону потенциала покоя у быстрых Ia и к.я. в.п.с.п., чего следовало бы ожидать при прокси-

мальной локализации соответствующих синапсов. Средняя величина равновесного потенциала м.к. в.п.с.п. составляет 20 ± 7 мв, Ia в.п.с.п. $39,8 \pm 11$ мв и к.я. в.п.с.п. 26 ± 14 мв. Различия между средними значениями статистически недостоверны.

Результаты приведенных измерений могут быть искажены за счет задержанного выпрямления, обнаруженного при использовании сильных деполяризующих токов в мотонейронах кошки (⁵). Для устранения этого фактора в часть исследуемых клеток инъецировался ТЭА, блокирующий потенциалзависимые калиевые каналы мембраны (⁶). Инъекция ТЭА проводила к значительному удлинению продолжительности потенциала действия, не влияя при этом на моносинаптические в.п.с.п., вызываемые в отсутствие приложения поляризующего тока (рис. 3 а, б). Однако чувствительность всех исследуемых моносинаптических в.п.с.п. к деполяризации резко возрастала. Это проявлялось в заметном уменьшении амплитуды в.п.с.п. под действием слабых деполяризующих токов (рис 3 в, г) и в сдвиге потенциала равновесия в сторону потенциала покоя (рис. 2 б). Средняя величина потенциала равновесия в мотонейронах, обработанных ТЭА, составляла $-12,7 \pm 4,6$ мв для м.к. в.п.с.п.; $-6,5 \pm 4,5$ мв для к.я. в.п.с.п. и $3,7 \pm 8,7$ мв для Ia в.п.с.п. Различия между этими величинами также оказались статистически недостоверными. Однако выявились достоверные различия между потенциалами равновесия, полученными до и после инъецирования в пейроплазму ТЭА. Так, для Ia в.п.с.п. $P < 0,03$, для м.к. в.п.с.п. $P < 0,01$ и для к.я. в.п.с.п. $P < 0,1$. Следует подчеркнуть, что ранняя фаза в.п.с.п. не реверсировалась и после инъекции ТЭА.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют об отсутствии корреляции между чувствительностью к трансмембранной поляризации и временным течением моносинаптических в.п.с.п. и о сильном возрастании чувствительности исследуемых входов, в особенности кортико-мотонейронного, к деполяризации после внутриклеточной инъекции ионов ТЭА. Полученные результаты показывают, что временное течение в.п.с.п. не может рассматриваться как главный критерий для определения локализации соответствующих синапсов, и позволяют предполагать, что генерация в.п.с.п., активируемых через различные синаптические входы, может быть связана с различным соотношением ионных проводимостей постсинаптической мембраны.

Институт эволюционной физиологии и биохимии
им. И. М. Сеченова
Академии наук СССР
Ленинград

Поступило
22 V 1974

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ W. Rall, J. Neurophysiol., v. 30, 1138 (1967). ² Г. Г. Курчавый, М. В. Моторина, А. И. Шаповалов, Нейрофизиология, т. 5, 289 (1973). ³ А. Т. Шаповалов, О. А. Карамьян et al., Brain Res., v. 32, 325 (1971). ⁴ R. Porter, J. Hore, J. Neurophysiol., v. 32, 443 (1969). ⁵ M. Ito, T. Oshima, J. Physiol., v. 130, 607 (1965). ⁶ C. M. Armstrong, B. Hille, J. Gen. Physiol., v. 59, 388 (1972).