

А. С. РАТУШНЯК, Л. В. ВОСКРЕСЕНСКАЯ, Т. М. ПАНКОВА,
М. Б. ШТАРК

«АДАПТИВНАЯ» СЛЕДОВАЯ РЕАКЦИЯ НЕЙРОНОВ ГИППОКАМПА В КУЛЬТУРЕ ТКАНИ

(Представлено академиком В. Д. Тимаковым 28 VIII 1975)

В (⁷, ⁸) нами была сформулирована гипотеза о возможном клеточном механизме памяти и рассмотрена экспериментальная модель — культура нервной ткани (к.н.т.) — для ее проверки. Правильность выбора модели подтверждается работами физиологического, электронно-микроскопического и иммунологического характера; они свидетельствуют о формировании и сохранении *in vitro* «органотипических» свойств нервной ткани (⁴, ⁵, ⁹, ¹⁰, ¹⁵).

В настоящей работе сделана попытка исследовать условия и возможности получения в к.н.т. следовых эффектов на основе оценки динамики импульсной активности (и.а.) нейронов. Из существующих моделей клеточных «аналогов» памяти (⁶) мы остановились на анализе адаптивной реакции нейронов поля CA₁₋₂ гиппокампа *in vitro* при автоматическом подкреплении межимпульсных интервалов (м.и.и.) заданной длительности (³). Выбор гиппокампа определяется его известным участием в механизмах памяти и высоким процентом условнореагирующих клеток аммоннова рога (¹⁴).

Методика культивирования описана в (⁴, ⁹). Регистрация импульсной активности нейронов (и.а.) осуществлялась внеклеточными жидкостными микроэлектродами, заполненными 2,5 М NaCl, сопротивление 5—15 Мом при диаметре кончика 0,5—1 мкм. Поиск фоновоактивных нейронов проводился трехкоординатным шаговым микроманипулятором. Визуализация рабочего поля достигалась с помощью телевизионного микроскопа. И.а. поступала в аналогово-цифровой магистрально-модульный управляющий комплекс на базе ЭВМ «Электроника-100» (²), где осуществлялось усиление, формирование сигнала и программное построение подкрепляющих стимулов (п.с.), подаваемых через биполярные электроды, введенные в эксплантат (рис. 1). Длительность подкрепляемых раздражением м.и.и. определялась их средней продолжительностью (рис. 2А). Амплитуда подкрепляющих стимулов выбиралась ниже уровня, оказывающего непосредственное тормозящее или возбуждающее влияние на импульсную активность исследуемого нейрона, и обычно была равна 100—500 мВ при частоте 10 Гц и длительности импульса 1,0 мсек. Использовался стимулятор ЭСЛ-1 с разделительной приставкой.

Результаты. Варианты фоновой импульсной активности исследованных нейронов соответствовали описанным нами ранее (⁹). При подкреплении длинных межимпульсных интервалов подкрепляющие стимулы наносились на эксплантат в случае, если значения этих интервалов превышали среднее для данного потока. Значения средних м.и.и. вычислялись на предшествующем фоновом участке (рис. 2А, Б). После 15—54 мин. подкреплений по такой схеме в структуре импульсной активности начинают доминировать межимпульсные интервалы меньшей продолжительности. Количество подкрепляющих стимулов соответственно уменьшается (рис. 2Б, а). Этот следовой эффект сохраняется в течение 10—50 мин. после отмены раздражений.

При второй программе подкреплений, диаграмма которой представлена на рис. 2 А, в, раздражения наносились после каждого спайка в течение времени, равного среднему межимпульсному интервалу. Таким образом, отличие вариантов подкрепления состояло в том, что в первом случае подкреплялись длинные интервалы, а во втором, наоборот, все интервалы, которые не превышали их средние значения. Естественно, что при этом преимущественно подкреплялись короткие межимпульсные интервалы. Такое подкрепление ведет к увеличению продолжительности м.и.и. и снижению числа подкрепляющих стимулов (рис. 2 Б, в).



Рис. 1

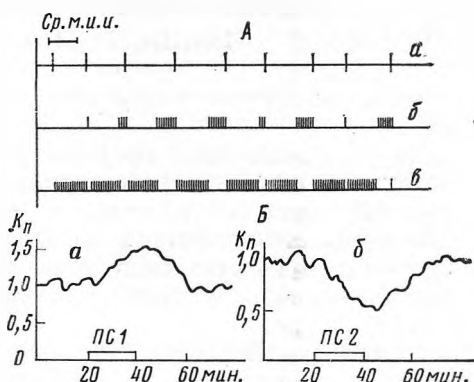


Рис. 2

Рис. 1. Положение электродов в эксплантате. а — отводящий электрод, б — стимулирующие электроды. Съемка с кинескопа. Новорожденная крыса, 23 дня в культуре

Рис. 2. А — диаграмма построения подкрепляющих стимулов: а — импульсный поток, б — подкрепляющие стимулы по 1-й программе, в — подкрепляющие стимулы по 2-й программе. Б — изменение коэффициента превышений м.и.и. ($K_{\text{п}} = t_{\text{ср. м.и.и.}} / t_{\text{м.и.и.}}$, где $t_{\text{м.и.и.}}$ — длительность текущего межимпульсного интервала, $t_{\text{ср. м.и.и.}}$ — длительность среднего межимпульсного интервала заданной длительности): а — при подкреплениях по 1-й программе (ПС1), б — при подкреплениях по 2-й программе (ПС2)

Описанная следовая реакция была получена на 5 из 20 исследованных нейронов, в двух случаях она воспроизводилась многократно в течение 8-часового эксперимента.

Таким образом, показана возможность формирования в культуре центральных нейронов следовых эффектов — устойчивых «адаптивных» изменений структуры и.а. — в связи с подкрепляющей стимуляцией м.и.и. определенной длительности. Этот эффект имел истинный характер устойчивой перестройки и.а., ибо сохранял свою структуру в отсутствие стимуляции (рис. 2). Описанный феномен получен в нейронах после 23–43 дней культивирования, т. е. в сроки, характеризующиеся созреванием синапсов тормозного и возбуждающего типов на пирамидных нейронах полей CA_{1-2} , CA_{3-4} (^{1, 11, 12, 15}). Отсутствие: а) мотивационной основы, управляющей «структурой» нейронных корреляторов обучения (⁶), и б) основных афферентных входов — септального и энториального, обеспечивающих связь пирамид CA_{1-2} с экстрагиппокампальными образованиями, позволяет предположить, что при формировании описанных следовых эффектов в к.н.т. мы встречаемся с некими «независимыми» свойствами нейронных ансамблей. Подобное предположение может быть усилено ссылками на последнюю работу Крейна (¹³), в которой показано созревание в к.н.т. эмбрионов сложных полисинаптических феноменов, отражающих динамику спинномозговых координаций, которые в те же сроки пренатального развития регистрируются.

- ¹ Е. Г. Антонова, Л. В. Воскресенская и др., VI Всесоюзн. конфер. по нейрокибернетике, Ростов-на-Дону, 1976, стр. 56.
- ² А. В. Буш, В. Н. Бураковский и др., Конфер. Автоматизация научных исследований на основе применения ЭВМ, Новосибирск, 1974, стр. 17.
- ³ Н. Н. Василевский и др., Нейрофизиология, т. 4, 4, 339 (1972).
- ⁴ Л. В. Воскресенская, Н. П. Карасев и др., Нейрофизиология, т. 6, 4, 356 (1975).
- ⁵ Е. А. Громова, А. Р. Чубуков, А. А. Никонов, ДАН, т. 221, № 1, 217 (1975).
- ⁶ М. Я. Рабинович, В кн.: Итоги науки и техники, т. 16, 1 (1975).
- ⁷ М. Б. Штарк, В. Г. Колпаков, Тез. V Всесоюзн. конфер. по нейрокибернетике, Ростов-на-Дону, 1973, стр. 347.
- ⁸ М. Б. Штарк, В. Г. Колпаков, Б. Б. Фукс, Усп. совр. биол., т. 78, 1 (4), 76 (1974).
- ⁹ М. Б. Штарк, Л. В. Воскресенская и др., ДАН, т. 202, № 3, 734 (1972).
- ¹⁰ М. Б. Штарк, М. В. Старостина и др., ДАН, т. 210, № 5, 1242 (1974).
- ¹¹ S. U. Kim, Exp. Neurol., v. 41, 150, 162 (1973).
- ¹² S. H. La Vail, N. K. Wolf, Am. J. Anat., v. 137, 1, 47, 66 (1973).
- ¹³ S. M. Crain, Aspects Neurogenesis, N. Y. — London, 1974, p. 69.
- ¹⁴ N. Segal, J. Neurophys., v. 36, 5, 840 (1973).
- ¹⁵ B. Zipser, S. M. Crain, M. B. Bornstein, Federat. Proc., v. 32, 420 (1973).