

Ю.С. Медникова¹, С.Н. Кожечкин², Ф.В. Копытова³, О.Х. Коштоянц¹

Приспособительная функция мозга и проблемы гипоксии

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии» Российской академии наук, Москва, 117485, ул. Бултерова, 5а

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии им. В.В. Закусова» Российской академии медицинских наук, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр неврологии» Российской академии медицинских наук, Москва, 105064, пер.Обуха, 5

На основе литературных и собственных данных делается вывод о том, что приспособительное поведение обеспечивается за счет изменения спонтанной активности нейронов. Спонтанная активность регулируется метаболической М-холинергической реакцией мозга по механизму увеличения эффективности проводящей функции дендритов в результате блокады K^+ проницаемости нейрональных мембран. Высокие энергетические потребности холинергического процесса создают угрозу для выживания нервных клеток в условиях гипоксии.

Ключевые слова: нейроны коры, спонтанная активность, ацетилхолин, температура, гипоксия

Yu.S. Mednikova¹, S.N. Koghechkin², F.V. Kopytova³, O.Kh. Koshtojantz¹

Adaptive function of the brain and problems of hypoxia

¹ Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology RAS, 5A, Butlerov street, Moscow, 117485, Russia

² Institute of Pharmacology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

³ Research Center of Neurology RAMS, 5, Obukha lane, Moscow, 105064, Russia

Based on the findings of various authors and own experimental data it was concluded that adaptive behaviour is regulated by changing in the level of spontaneous neuronal activity. Spontaneous firing is monitored by brain metabolic M-cholinergic reaction which increased the efficacy of dendritic propagation by mechanism of K^+ membrane channels blockade. High energy demands of cholinergic process creates a threat to nerve cells survival in hypoxic conditions.

Key words: cortical neurons, spontaneous activity, acetylcholine, temperature, hypoxia

Энергетические потребности мозга теплокровных являются предметом пристального внимания исследователей. Мозг, масса которого составляет всего 2% от массы тела, потребляет около 20% всех энергоресурсов, вырабатываемых в организме. Естественно предположить, что причиной таких высоких энергетических потребностей является специфическая функция центральной нервной системы по обеспечению приспособительного поведения. Эта точка зрения базируется на многочисленных экспериментальных данных, показывающих, что активное состояние мозга, связанное с сенсорным восприятием, безусловнорефлекторной деятельностью, с приобретением или выполнением поведенческих навыков, требует повышенного уровня энергетического метаболизма в разных областях мозга [16, 19, 23, 33]. При этом нейроны, непосредственные регуляторы самых разнообразных адаптивных реакций, потребляют энергии в 12 раз больше, чем ткань мозга,

в целом [4]. Существует несколько предположений относительно наиболее энергоемких процессов, протекающих в нейронах [26]. Если поддержание стабильного значения потенциала покоя требует минимальных энергетических затрат, к тому же одинаковых у нервных и глиальных клеток, то спайковая активность, сопряженная с энергетически зависимыми процессами, такими, как обратное поглощение выделенного при активации глутамата, экзо- и эндоцитоз везикул из пресинаптических окончаний, трансмембранный перенос ионов Na^+ , K^+ , Ca^{++} , постоянно сопровождающий каждый цикл активации, — рассматриваются как основные потребители энергии в нервной ткани [26]. Вместе с тем, элементарный процесс формирования спайка и условия его возникновения являются идентичными в мозге теплокровных и хладнокровных позвоночных [12]. Импульсная активность нейронов хладнокровных в среднем несколько выше, чем у млекопитающих — у рыб, например, полностью отсутствуют нейроны со спонтанной частотой разрядов до 1 имп./с [14]. Однако, энергетические потребности мозга хладнокровных примерно в 5 раз ниже, чем у теплокровных [4]. Следовательно, средний уровень

Для корреспонденции: Медникова Юлия Сергеевна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. нейрохимических механизмов обучения и памяти ФГБУН «ИВНД и НФ» РАН.
E-mail: zubkov@mi.ras.ru

импульсации не может быть критерием энергетической зависимости нервной деятельности и нужно искать другие показатели.

Чтобы установить связь между энергетикой и особенностями функционирования мозга мы провели комплексное исследование в разных экспериментальных ситуациях: на бодрствующих животных и на переживающих срезах мозга. В обоих случаях исследованию подвергались нейроны сенсомоторной коры.

Регулирование

уровня спонтанной активности как механизм формирования приспособительного поведения

В классической работе E.V. Evarts [17] при выработке у обезьян максимально коротколатентной условной реакции разгибания передней конечности на сигнальный стимул в прецентральных нейронах коры были обнаружены спайковые ответы с разной величиной приращения над фоновым уровнем, в том числе и очень высокой (более 40 имп./с). Все зарегистрированные нейроны отвечали с латентными периодами более 200 мс, а увеличение импульсации длилось до нескольких секунд, в конечном итоге запуская моторную условнорефлекторную реакцию. Длительный латентный период условных реакций, намного превышавший время прихода в кору специфического возбуждения, а также продолжительное течение импульсных ответов свидетельствовали об их неспецифической природе [17]. Сходная динамика реагирования нейронов в ответ на подготовительный сигнал была обнаружена во многих последующих экспериментах по изучению механизмов формирования условных приспособительных двигательных реакций [21, 27]: нейронная активность начинала изменяться не раньше чем через 200 мс после стимула, среднее время двигательных реакций составило 300 мс и более. При выработке условной оборонительной реакции, которая должна была предотвратить электрокожное раздражение конечности, условный двигательный ответ становился возможным только после того, как спонтанная импульсная активность нейронов сенсомоторной коры пятикратно возрастала по мере предъявления сочетаний звукового и электрокожного раздражителей [6]. Аналогичные результаты были получены в работе [10], где было к тому же показано, что показатели спонтанной активности нейронов гиппокампа изменяются примерно в 3 раза в ситуации, когда сигнальное значение условного звукового раздражителя меняется с пищевого на оборонительный. Приведенные примеры формирования нейрональных ответов, запускающих соответствующее приспособительное поведение, свидетельствуют о том, что при выполнении своей основной функции мозг регулирует импульсную активность, используя неспецифические механизмы.

Мы изучали характер реагирования нейронов моторной области коры при выполнении животным простейшей приспособительной реакции — реакции разгибания передней конечности на пороговое электрокожное раздражение.

Методика

Эксперименты проведены на бодрствующих необездвиженных кроликах, жестко фиксированных в станке. Движения головы ограничивались специальным головодержателем-узечкой, не оказывающим травмирующего действия на животное. В зоне моторного представительства передней конечности экстраклеточно регистрировали активность отдельных нервных клеток. Область регистрации (AP0; L2) определяли в начале эксперимента по возникновению легкой реакции разгибания запястья передней лапы в ответ на эпидуральную стимуляцию коры. Неподвижную часть микроманипулятора крепили фосфат-цементом над областью коры с наименьшим порогом возникновения двигательной реакции. Для регистрации активности нейронов использовали стеклянные микроэлектроды, заполненные 3М раствором NaCl (сопротивление 2—4 МОм). Одновременно с регистрацией импульсной активности нейронов проводили запись электромиографической (ЭМГ) активности мышц-разгибателей запястья. ЭМГ регистрировали подкожными прошивными электродами.

В качестве афферентных стимулов использовали электрокожное раздражение (ЭКР) передней конечности (серия из 5 прямоугольных импульсов тока силой 1,5—4,8 мА с частотой следования 10/с и длительностью импульса 100 мкс). Раздражение наносилось на конечность, контралатеральную стороне регистрации импульсной активности в коре мозга. Силу тока подбирали минимальной для возникновения ЭМГ-ответа раздражаемой конечности.

В период регистрации отдельного нейрона подавали серию электрокожных стимулов, содержавших, если позволяли условия регистрации, от 20 до 50 предъявлений ЭКР. Большое число подаваемых однотипных раздражителей давало материал для построения усредненных перистимульных гистограмм, в каждом бине которых накапливалось большое число спайков, что позволяло с помощью специальной компьютерной программы строить эмпирические функции распределения межспайковых интервалов на коротких (200 мс) временных стадиях, соответствующих этапам развития вызванного активационного ответа. Анализировали также латентные периоды возникающих импульсных реакций и их продолжительность.

Результаты и обсуждение

Среди нейронов, зарегистрированных в сенсомоторной коре бодрствующих кроликов, 36 нервных клеток в ответ на электрокожное раздражение формировали реакции в виде повышения импульсной активности. На рис. 1 показан пример активационной реакции на ЭКР у одного из зарегистрированных нейронов. Импульсная активность нейрона представлена в виде перистимульной гистограммы (нижний фрагмент рис. 1А), построенной при усреднении 21 реакции. Хорошо видно, что ответ состоит из коротколатентного высокочастотного компонента, который плавно переходит в период тонического повышения импульсации, значительно превышающий по длительности (8 с) время действия реального раздражителя (0,5 с). На рис. 1Б показано, что длительность ЭМГ-ответа на электрокожное раздражение определяется суммарной продолжительностью обоих компонентов импульсной реакции нейрона. На верхнем фрагменте рис. 1А в графическом виде представлены распределения межспайковых интервалов в каждом последовательном 200 мс бине гистограммы. Формы этих распределений отчетливо демонстрируют, что первый — специфический компонент реакции значительно отличается от второго — неспецифического по характеру распределения межспайковых интервалов и, следовательно, оба компонента имеют разное происхождение. Из 36 нейронов, отвечавших активацией на ЭКР, только у 9 нервных клеток были обнаружены коротколатентные (до 30 с) реакции, тогда как у большинства нейронов (n=27) ответы состояли только из длиннорлатентных (более 100 мс) неспецифических продолжительных реакций, как это показано на рис. 2. Следовательно, неспецифический тип реагирования является доминирующим при формировании активационных реакций на сенсорный раздражитель. Мощность этих неспецифических реакций обеспечивает приращение импульсации над уровнем фона на 5—10 имп./с и более. Все это свидетельствует о том, что характер двигательного ответа на ЭКР практически полностью определяется суммарной неспецифической реакцией нейронов сенсомоторной коры (рис. 2). Таким образом, формирование безусловнорефлекторных ответов, так же как и условнорефлекторных [6, 10, 17, 21, 27], зависит от развертывания неспецифических процессов, повышающих уровень спонтанной активности нейронов.

М-холинергическая реакция мозга, ее температурная зависимость и роль в формировании гипоксических состояний

В экспериментах, проведенных на срезах сенсомоторной коры морских свинок, удалось показать, что уровень спонтанной активности нейронов непосредственно зависит от условий проведения возбуждения из дендритов в сому [7]. В переживающих срезах коры

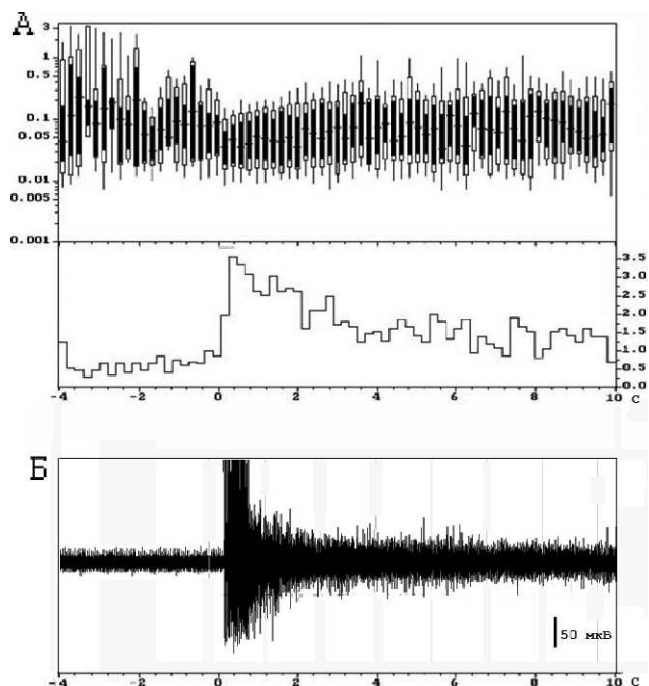


Рис. 1. Двухкомпонентный ответ нейрона сенсомоторной коры на электрокожное раздражение передней конечности и ЭМГ реакция животного: А — на нижней части изображена перистимульная гистограмма среднего числа спайков (из 21 предъявления) за 200 мс, черта сверху соответствует времени действия раздражителя. Цифры по вертикальную ось справа обозначают число спайков за 200 мс. В верхней части рисунка прямоугольниками изображены квантили эмпирических функций распределения межспайковых интервалов в последовательных 0,2 с периодах, соответствующих бинам гистограммы. Центральная линия в прямоугольнике соответствует квантили 50%, края закрашенного прямоугольника — квантилям 25 и 75%, края контурного прямоугольника — квантилям 15 и 85%, концы отрезков — квантилям 5 и 95%. По вертикали в логарифмической шкале отложены величины встречающихся интервалов (с); Б — электромиографический ответ на электрокожное раздражение мышц-разгибателей запястья передней конечности

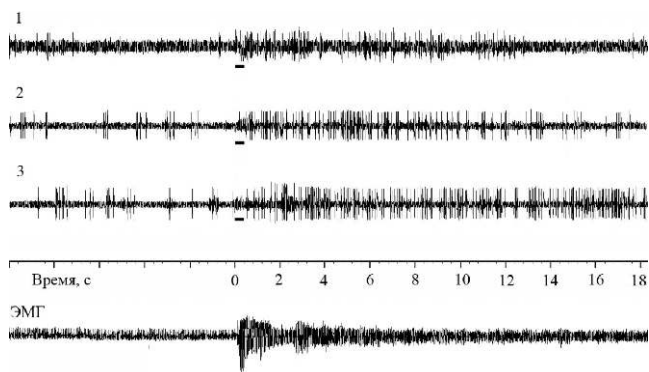


Рис. 2. Примеры импульсных реакций на электрокожную стимуляцию трех разных нейронов сенсомоторной коры: 1, 2, 3 — осциллограммы активности трех разных нейронов на ЭКР передней конечности. Длительность действия раздражителя отмечена черным прямоугольником под каждой осциллограммой. Шкала времени — в секундах, 0 соответствует началу стимуляции. Пример электромиографического ответа на ЭКР представлен на нижней осциллограмме

около 40% нейронов не имеют фоновой импульсации [7, 8]. У некоторых нейронов фоновая активность может возникнуть без каких-либо видимых причин. С помощью специально разработанной методики, позволяющей локально подводить медиаторы к отдельным пунктам на мембране нейронов, удалось обнаружить, что появлению и последующему росту уровня спонтанной активности предшествует постепенное увеличение интенсивности импульсных реакций нервных клеток на ионофоретическое подведение глутамата к отдельным дендритным локусам [7, 8]. Проведение возбуждения по дендритам осуществляется со значительным декрементом, величина которого пропорциональна электротонической протяженности дендрита [32]. Амплитуда ВПСП в тонких дендрит-

ных веточках из-за их большого входного сопротивления может составить до 50 мВ [29]. Следовательно, чтобы возникла стабильная фоновая активность, формируемая за счет постоянного протекания по дендритам потока миниатюрных ВПСП [34], требуется снизить декремент проведения. Эту функцию в нервной системе осуществляет метаболическая М-холинергическая реакция за счет блокады K^+ проницаемости нейрональных мембран [25, 30] одновременно по всей поверхности нейрона вне зависимости от пункта приложения ацетилхолина [18, 31]. В результате снижается ток утечки по пути следования возбуждения из дендритов и значительно (в несколько раз) увеличивается амплитуда ВПСП при очень небольшом (несколько процентов) увеличении удельного сопротивления мембран [11]. Это и приводит к появлению и росту фоновой активности нейронов [8]. Дополнительное выделение ацетилхолина из холинергических депо мозга является обязательной реакцией нервной системы на любое сенсорное возбуждение [13, 22]. Реакция на ацетилхолин, таким образом, формирует неспецифический компонент ответа на раздражитель, причем тем более выраженный, чем выше сигнальное значение стимула [9, 13].

М-холинергическая реакция, будучи метаболическим процессом [3, 15, 24], требует относительно большого времени для развития необходимых биохимических преобразований, приводящих к блокаде K^+ каналов. Поэтому латентный период этой реакции составляет 200—250 мс при температуре 34—35°C [15, 30]. Именно такую продолжительность имеет латентный период неспецифического повышения импульсации в ответ на сенсорный раздражитель [17, 21, 27]. На рис. 3Б представлены примеры реагирования на ацетилхолин нейронов V слоя сенсомоторной коры в переживающих срезах мозга. Очевидно, что характер течения импульсной активности, вызванного ионофоретической аппликацией ацетилхолина к клеточным телам, полностью совпадает с неспецифическим компонентом ответа на ЭКР нейронов бодрствующих кроликов (рис. 1 и 2). Метаболическая природа холинергической реакции может быть причиной ее высокой температурной зависимости.

Методика

Термобиологические эксперименты были проведены на срезах сенсомоторной коры морских свинок. Срезы толщиной 500 мкм приготавливали из продольного блока коры с помощью вибротома VSL (World Precision Instruments, США). Инкубационная камера, в которую помещали срезы, состояла из двух отсеков с независимым протоком раствора Рингера — Кребса, насыщенного газовой смесью (95% O_2 + 5% CO_2) и

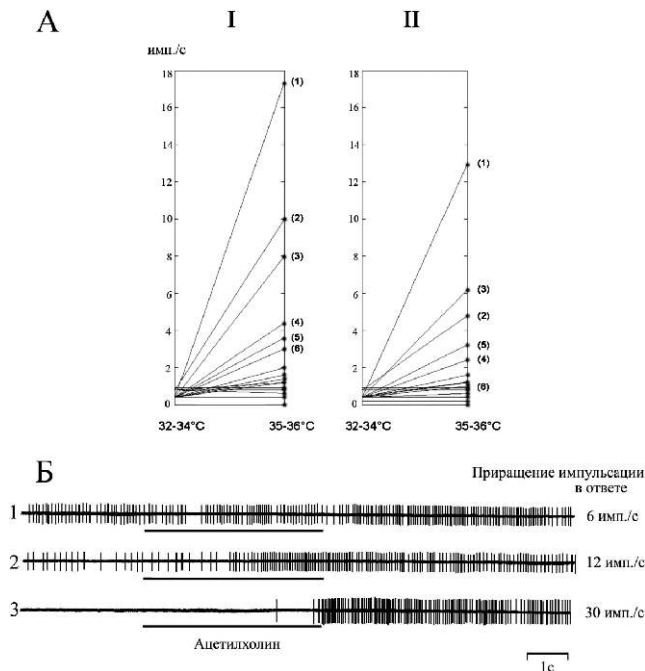


Рис. 3. Температурная зависимость скорости М-холинергической реакции и примеры импульсных ответов на аппликацию ацетилхолина у нейронов с разным уровнем спонтанной активности:

А — диаграммы на I и II изображают изменения частоты импульсной активности каждого из 16 спонтанно неактивных при $t=32-34^\circ C$ нейронов на микроионофоретическое подведение ацетилхолина (I) и в предшествующий период спонтанной активности (II) при увеличении температуры от 32—34 до 35—36°C. Номера шести нейронов, обнаруживших наиболее значительные изменения импульсации при температурном переходе, отмечены в скобках возле соответствующих прямых. По горизонтали — два температурных диапазона 32—34 и 35—36°C, по вертикали — максимальная текущая средняя частота импульсной активности;

Б — микроионофоретическая аппликация ацетилхолина производилась к соме нейронов при температуре инкубационной среды 34—35°C. Ток фореза ацетилхолина всюду 80 нА (положительный полюс внутри электрода). 1, 2 — реакции двух спонтанно активных нейронов; 3 — пример реагирования одного из спонтанно неактивных нейронов. Длительность фореза отмечена чертой под каждой осциллограммой. Цифры справа указывают величину приращения импульсации в ответ на ацетилхолин по сравнению с уровнем предшествующего фона

состоявшего из (мМ): 124 — NaCl; 2,4 — CaCl₂; 1,3 — MgSO₄; 5 — KCl; 1,25 — KH₂PO₄; 26 — NaHCO₃ и 10 — глюкозы. Приготовленные срезы в течение 1 ч инкубировали при комнатной температуре, затем температуру раствора повышали до 32—34°C. Этот уровень поддерживали в качестве стандартного в течение всего эксперимента. Повышение температуры осуществляли до уровня 36—38°C со скоростью 2°/мин. С такой же скоростью температура восстанавливалась.

Для экстраклеточной регистрации импульсной активности и ионофоретического подведения медиаторов использовали 3-канальные стеклянные микроэлектроды, с общим диаметром кончика 7,4—8 мкм. Отводящий канал в электродах заполняли 3М раствором NaCl. Второй канал содержал 2М раствор ацетилхолинхлорида, третий канал заполняли 1М раствором глутамата натрия («Sigma» США) для тестирования импульсной активности в случае регистрации малоактивных и молчащих нейронов. Ток фореза ацетилхолина составлял 40—60 нА (положительный полюс внутри электрода). Глутамат подводили током 15—30 нА (отрицательный полюс внутри электрода).

Результаты и обсуждение

Эксперименты проведены на 30 нейронах сенсомоторной коры. Зарегистрированные нервные клетки имели спонтанную активность от 0 до 15 имп./с при температуре 32—34°C. Реакции на ионофоретическое подведение ацетилхолина, подводимого к спонтанно активным нервным клеткам, характеризовались умеренным приращением импульсации от 3—5 до 12—15 имп./с. У спонтанно неактивных нейронов и у нейронов с эпизодической активностью реакции на ацетилхолин появлялись только при температуре выше 34°C. В этой группе нейронов обнаружены наиболее мощные реакции на стандартное подведение ацетилхолина — приращение импульсации над уровнем фона у них составило 30 имп./с. и более (рис. 3Б).

В группе «молчащих» при 32—34°C нейронов удается наиболее отчетливо проследить, как меняется скорость холинергического процесса с ростом температуры до нормальных для теплокровных значений. На рис. 3А, I показано, что у некоторых нейронов, не отвечавших на ацетилхолин при 32—34°C, с увеличением температуры всего на 2—3°C начинают возникать мощные реакции на ацетилхолин с приращением импульсной активности над фоном до 10—16 имп./с. Более того, у тех же нейронов приближение температуры к отметке 36°C приводит к появлению стабильной спонтанной активности, уровень которой доходит до 6—12 имп./с (рис. 3А, II). Следовательно, при нормальной для теплокровных

температуре мозга возможности для регулирования спонтанной активности нейронов под влиянием ацетилхолина резко возрастают, а вместе с ними возрастают и совершенствуются приспособительные реакции организма.

Для реализации преимуществ, которыми обладает мозг при высокой температуре, требуются большие энергетические затраты. В одной из первых работ, посвященных изучению особенностей реакций нейронов коры на ионофоретическое подведение ацетилхолина, было обнаружено, что при действии блокаторов энергетического метаболизма или при создании кратковременного аноксического состояния активация, вызываемая ацетилхолином подавляется вместе со снижением уровня спонтанной активности при практически полной сохранности возбуждения, вызываемого глутаматом [20]. В экспериментах по изучению последствий иммерсионной гипотермии было показано, что напряжение кислорода в коре мозга крыс существенно возрастает после понижения температуры с 37 до 34°C [1]. Следовательно, при температуре ниже 34°C, когда происходит резкое снижение скорости холинергического процесса (рис. 3А), нервная ткань перестает утилизировать значительное количество кислорода, поступающего в мозг. Дальнейшее охлаждение приводит к уменьшению потребления кислорода нервной тканью примерно в 5 раз [4]. Таким образом, высокие энергетические потребности мозга при его функционировании связаны со значительной энергоемкостью М-холинергического процесса при температуре 35—36°C и выше. Это обстоятельство ставит работу нервной системы в жесткую зависимость от энергетического обеспечения. В мозге отсутствуют какие-либо энергетические резервы [4], поэтому даже незначительное снижение скорости энергетического метаболизма немедленно приводит к формированию гипоксического состояния. В этом мы убедились при проведении термобиологических экспериментов на переживающих срезах сенсомоторной коры по методике, описанной выше. Данные, полученные на 16 нервных клетках, первыми зарегистрированными в экспериментах, что исключало влияние предшествующих температурных воздействий, показали, что рост температуры выше 34°C очень быстро приводит к статистически значимому ($p < 0,001$, критерий Уилкоксона — Манна — Уитни) уменьшению амплитуды спайков (рис. 4). Обращает на себя внимание разнообразие изменений этого параметра у разных нейронов, но направленность изменений была одинаковой для всех. Снижение амплитуды спайков было приурочено именно к той температурной зоне, в которой обнаружено резкое увеличение эффективности активационной реакции на ацетилхолин и рост частоты спонтанной активности (рис. 3А).

Несмотря на то, что повышение температуры инкубационной жидкости до 35—36°C длилось всего несколько минут, полного восстановления амплитуды спайков после возвращения исходной температуры (32—34°C) не обнаружено ни у одного нейрона. В большинстве случаев (12 нейронов) падение амплитуды спайков, связанное с нагреванием инкубационной среды, продолжалось после восстановления температуры до 32—34°C (рис. 5Б) и в конце концов нейроны переставали выделяться из фона. Средние величины изменения амплитуды спайков в процентах по отношению к значениям до нагревания показаны на рис. 5А. Амплитуда спайков достоверно снизилась при нагревании ($p < 0,001$, критерий Уилкоксона—Манна—Уитни) до $76,7 \pm 3,2\%$ (рис. 5А,1,2) и продолжала падать при восстановлении температуры до исходных значений ($18,7 \pm 8,6\%$) (рис. 5А,3). Эти данные высоко достоверны как по отношению к величине спайков до нагревания, так и к значениям при $t = 35—36^\circ\text{C}$ ($p < 0,001$). Возобновления активности нейронов при ее полном исчезновении в результате значительного снижения амплитуды спайков не удалось обнаружить в течение 1 часа инкубирования при стандартной температуре 32—34°C. Дальнейшие наблюдения не проводились.

Полученные результаты позволяют сделать несколько выводов. Прежде всего они подтверждают, что

скорость холинергической реакции при температуре выше 34°C действительно очень значительно возрастает. В связи с этим недостаточное снабжение нейронов энергетическим субстратом при искусственном инкубировании [2] создает конкурентные условия за доступ к энергоносителям между холинергической реакцией, обеспечивающей функциональное регулирование состояния K^+ проницаемости нейрональных мембран, и метаболическими реакциями, поддерживающими жизнеспособность самих нервных клеток. Поскольку на поддержание жизнедеятельности нейронов из общего энергетического баланса нервной ткани тратится всего 10—15% энергоресурсов [4], все остальное идет на обеспечение специальной функции мозга по формированию приспособительных реакций, т.е. именно на высокоскоростной (при $t > 34^\circ\text{C}$) холинергический процесс. Нетрудно видеть, что в условиях гипоксии метаболические реакции нейронов, поддерживающие ионный гомеостаз, сразу, как только температура мозга становится выше 34°C, начинают испытывать энергетический голод, не в состоянии конкурировать с мощнейшим потребителем энергии, каким является холинергический процесс при этой температуре. Падение амплитуды спайков является следствием сниженной активности трансмембранных переносчиков, что является первым признаком наступления гипоксического состояния мозга [5, 28].

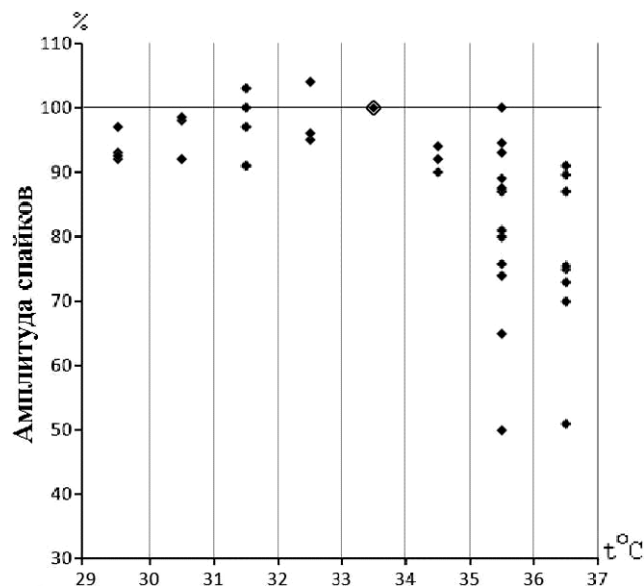


Рис. 4. Амплитуда спайков нейронов сенсомоторной коры в температурном диапазоне 29—37°C по отношению к значениям при $t = 33^\circ\text{C}$.

Данные для отдельных нейронов изображены ромбами и представлены в процентах по отношению к значению амплитуды спайка, которую каждый нейрон имел при $t = 33^\circ\text{C}$ (единый для всех нейронов ромб, обведенный контуром).

Нагреванию и охлаждению от 33°C подвергались разные нейроны, зарегистрированные первыми в эксперименте.

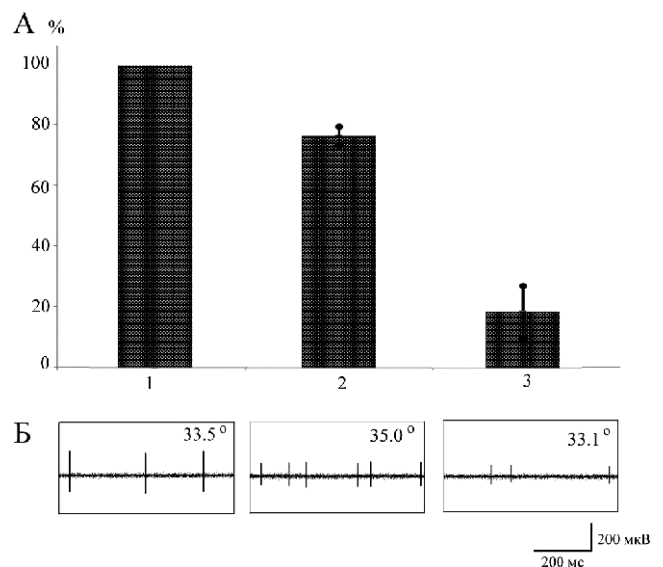


Рис. 5. Изменение амплитуды спайков нервных клеток при нагревании инкубационной среды от 32—34 до 35—37°C и последующем восстановлении температуры: А — усредненные для 16 нейронов данные по изменению амплитуды спайков при 35—37°C (2) и при последующем восстановлении температуры до 32—34°C (3) по сравнению с исходными значениями до нагревания (32—34°C), принятыми за 100% (1). Весь цикл повышения температуры инкубационной среды от 32—34 до 35—37°C и ее восстановления длился не более 5—6 мин; Б — изменение амплитуды спайков, связанное с нагреванием инкубационной среды

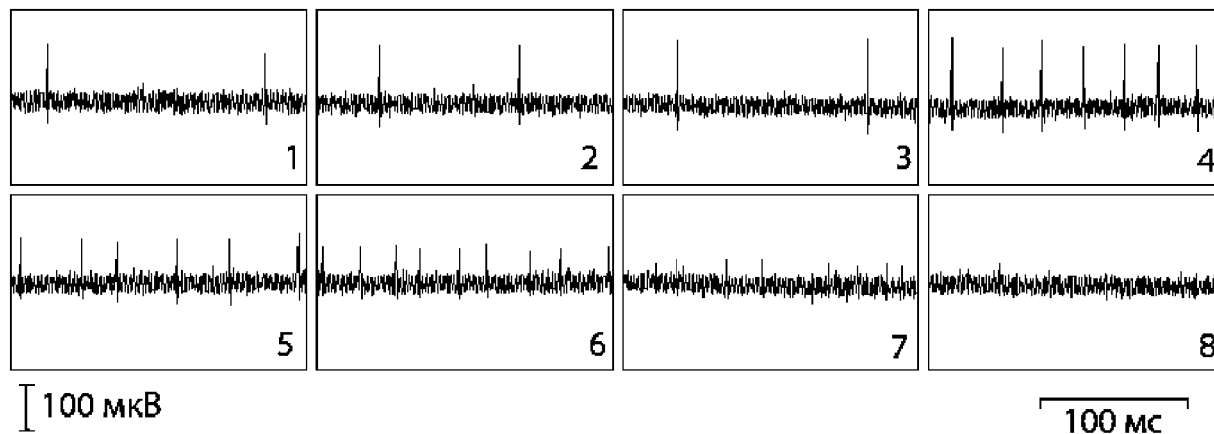


Рис. 6. Фрагменты записи активности нейрона сенсомоторной коры бодрствующего кролика до и на разных этапах после внутривенного введения этанола:

1) до введения этанола; 2) сразу после окончания введения этанола в дозе 0,6 г/кг; 3) через 10 минут; 4), 5), 6), 7) соответственно через 40, 45, 50, 55 мин; 8) через 1,5 ч

Второй вывод состоит в том, что недостаточное энергетическое снабжение Na^+, K^+ -АТФазы, длящееся в течение всего нескольких минут, надолго переводит фермент в неактивное состояние, что может явиться причиной отдаленных повреждающих последствий, вызванных гипоксией [28].

Третий вывод непосредственно связан со вторым: длительное снижение активности Na^+, K^+ -АТФазы не только приводит к прогрессирующей потере амплитуды спайков нейронов, подвергшихся гипоксическому воздействию, но и к изменению состава экстраклеточной среды, в частности, к значительному росту экстраклеточной концентрации ионов K^+ [28].

Экспериментами последних лет, проведенными на бодрствующих кроликах, по методике, описанной в первой части статьи, удалось обнаружить, что действие наркотических препаратов (умеренная доза алкоголя) и центральных анестетиков (гексенал) связаны со снижением энергетического метаболизма нейронов, т.е. с развитием гипоксических состояний разной степени выраженности. В силу того, что гипоксическое состояние создает отставленные эффекты, связанные с длительной блокадой Na^+, K^+ -АТФазы, импульсная активность каждого нейрона регистрировалась на протяжении всего экспериментального дня до и после подведения препаратов. Оба препарата вводились в краевую вену уха кролика в дозе 0,6 г/кг (этанол) и 50 мг/кг (гексенал) в разных экспериментальных сериях. Регистрировали импульсную активность нейронов, а также электромиографическую реакцию мышц-разгибателей запястья в ответ на ЭКР передней конечности. На рис. 6 показано, как постепенно под влиянием этанола развивается гипоксическое состояние мозга. Ни во время введения препарата, длившегося примерно 5 мин, ни долгое время после спонтанная импульсная актив-

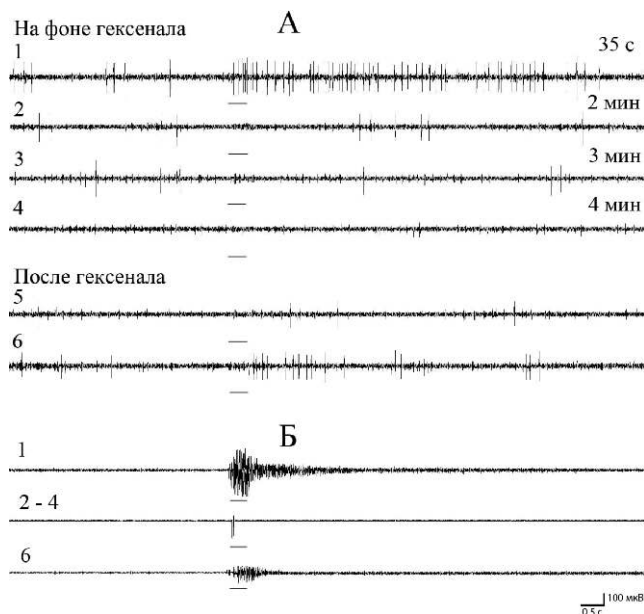


Рис. 7. Фрагменты записи активности нейрона сенсомоторной коры бодрствующего кролика и ЭМГ-активности мышц-разгибателей запястья в фоне и в ответ на ЭКР передней конечности на разных этапах внутривенного введения гексенала и после прекращения его действия:

А — фоновая импульсная активность нейрона и ответ на ЭКР при внутривенном введении гексенала в дозе 50 мг/кг через 35 с после начала введения (1); 2), 3), 4) — соответственно на 2-й, 3-й, 4-й минуте действия гексенала; 5), 6) — через 7 и 15 мин после прекращения введения гексенала;

Б — ЭМГ активность мышц-разгибателей запястья в те же сроки на фоне действия гексенала и после прекращения его введения: 1) через 35 с после начала введения; 2), 3), 4) на 2–4-й минуте во время введения; 6) при восстановлении ЭМГ ответа на ЭКР через 15 мин после прекращения введения гексенала.

Время действия электрокожного раздражения отмечено чертой под каждой осциллограммой.

ность нейрона не изменялась ни по амплитуде, ни по частоте (рис. 6,1,2,3). Только через 40 мин после введения этанола начинается постепенный подъем частоты импульсации (рис. 64—6 по сравнению с 1—3), что сопровождается падением амплитуды спайков, вплоть до их полного исчезновения через 1,5 ч (рис. 68). При этом ЭМГ реакции на электрокожное раздражение передней конечности ни во время введения этанола, ни в последующем в течение нескольких часов регистрации не прекращались. Из 13 нейронов, активность которых удавалось регистрировать в течение всего экспериментального дня, у 9 нервных клеток внутривенное введение умеренной дозы алкоголя вызывало прогрессивное падение амплитуды спайков спустя несколько десятков минут и практически полное их исчезновение через 0,5—2,5 ч после инъекции. Полного восстановления амплитуды спайков не удавалось обнаружить на протяжении 5—6-часового наблюдения. Полученные данные говорят о том, что гипоксическое состояние при действии алкоголя развивается довольно медленно, но приводит к тем же результатам, которые были обнаружены и в срезах мозга — падение амплитуды спайка на долгие часы после непродолжительного уменьшения нормального энергетического снабжения нейронов.

Совершенно иначе развивалось гипоксическое состояние при действии гексенала. Уже на 2-й минуте после начала его введения происходило исчезновение продолжительного длиннотентного активационного ответа на ЭКР (рис. 7А,1 и 2), что приводило к прекращению двигательного ответа на стимуляцию (рис. 7Б,1 и 2—4). Примерно к 4-й минуте действия препарата исчезала спонтанная активность (рис. 7А,4). В этот же период пропадал роговичный рефлекс — животное погружалось в бессознательное состояние. Частичное восстановление регистрируемых показателей наступало через 15 мин после 5-минутного введения гексенала (рис. 7А, 6 и Б,6).

Снижение энергетического снабжения нейронов, таким образом, приводит к разным последствиям в зависимости от глубины энергетического дефицита. Действие системных анальгетиков резко снижает синтез макроэргических молекул в нейронах до уровня, когда проявление холинергического процесса в мозге становится невозможным. Это влечет за собой значительное ослабление неспецифических импульсных реакций на раздражитель и снижение уровня спонтанной активности нейронов. Формирования адаптивных реакций в этом случае не происходит, наступает бессознательное состояние.

Если ограничение энергоснабжения происходит не более чем на 15%, оставшихся 85% оказывается достаточно для полного развертывания М-холинергического процесса. Адаптивные функции при этом не на-

рушаются, но в силу высокой скорости холинергического регулирования спайковой активности низкоскоростные метаболические реакции, обеспечивающие физиологическое выживание нейронов, начинают испытывать энергетический дефицит. Это и приводит к прогрессивному падению амплитуды спайков, а в случае длительного сохранения гипоксического состояния — к массовой гибели нейронов [5, 28]. Но прежде, чем это случится, в мозге может возникнуть удивительное состояние, когда из-за ограничения активности Na^+ , K^+ -АТФазы во внеклеточном пространстве нейронов накопится повышенное содержание K^+ . В связи с падением концентрационного градиента по K^+ между внешней и внутренней средой, K^+ ток утечки будет частично снижен и возникнет неадаптивное повышение спонтанной активности (рис. 6:4-6) за счет улучшения проводящей функции дендритов [32] для стационарного потока миниатюрных ВПСП [34]. Регулирование этого потока с помощью выброса ацетилхолина формирует адаптивное поведение, а с помощью высокой концентрации внеклеточного K^+ создает эйфорические состояния.

Список литературы

1. **Вовенко Е.П.** Напряжение кислорода в мозгу крысы при острой иммерсионной гипотермии // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 1993. — Т. 79, №1. — С. 119—121.
2. **Годухин О.В., Малахова В.И., Калемнев С.В.** Динамика функционального состояния переживающего среза мозга и факторы, вызывающие его нарушение // Успехи физиол. наук. — 1992. — Т. 23, №1. — С. 40—57.
3. **Зеймаль Э.В., Шелковников С.А.** Мускариновые холинорецепторы. — Л.: Наука, 1984.
4. **Иванов К.П.** // Основы энергетики организма.
4. Энергоресурсы организма и физиология выживания. — СПб.: Наука, 2004.
5. **Исмагилов М.Ф.** Ишемический мозговой инсульт: терминология эпидемиология, принципы диагностики, патогенетические подтипы, терапия острого периода заболевания // Неврологический вестник. — 2005. — Т. 37, №1—2. — С. 67—76.
6. **Медникова Ю.С.** Активность нейронов моторной зоны коры при выработке локального инструментального оборонительного рефлекса у кроликов // Журн. высш. нерв. деят. — 1983. — Т. 33, №6. — С. 1067—1072.
7. **Медникова Ю.С., Копытова Ф.В., Жадин М.Н.** Уровень спонтанной активности и импульсные ответы корковых нейронов на локальное подведение возбуждающих аминокислот к дендритам и соме // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 2008. — Т. 94, №5. — С. 502—511.
8. **Медникова Ю.С., Копытова Ф.В., Жадин М.Н.** Спонтанная активность корковых нейронов *in vitro* и ее регулирование под воздействием ацетилхолина // Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 2009. — Т. 95, №8. — С. 820—829.
9. **Полянский В.Б., Евстихин Д.В., Соколов Е.Н., Крючкова А.В.** Ограниченная пластичность нейронов различения зрительной коры и гиппокампа кролика в

процедуре oddball (случайных замен) // Журн. высш. нерв. деят. — 2005. — Т. 55, №3. — С. 360—367.

10. Тимофеева Н.О., Котляр Б.И., Попович Л.Д. Анализ нейронного механизма условнорефлекторного переключения // Журн. высш. нерв. деят. — 1982. — Т. 32, №5. — С. 879—887.

11. Чернышев Б.В., Майоров В.И., Москвитин А.А. Облегчение и угнетение под влиянием ионофоретической аппликации ацетилхолина разных компонентов реакций нейронов двигательной коры кошки при выполнении условного рефлекса постановки лапы на опору // Журн. высш. нерв. деят. — 1998. — Т. 48, №1. — С. 99—112.

12. Экклс Дж. // Физиология нервных клеток. — М.: Иностран. Лит., 1959. (Eccles J.C. // The Physiology of Nerve Cells. — Baltimore: J. Hopkins Press, 1957).

13. Acquas E., Wilson C., Fibiger H.C. Conditioned and unconditioned stimuli increase frontal cortical and hippocampal acetylcholine release: effects of novelty, habituation, and fear // J. Neurosci. — 1996. — Vol. 16, №39. — P. 3089—3096.

14. Bastian J., Nguyenkim J. Dendritic modulation of burst-like firing in sensory neurons // J. Neurophysiol. — 2001. — Vol. 85, №1. — P. 10—22.

15. Brown D.A., Buckley N.J., Caulfield M.P. et al. Coupling of muscarinic acetylcholine receptors to neural ion channels: closure of K⁺ channels // Molecular Mechanisms of Muscarinic Acetylcholine Receptor Function / Ed. by J. Wess. — New York, Berlin, Heidelberg: Springer R.G. Laudes Company. — 1995. — P. 165—182.

16. Conejo N.M., Gonzales-Pardo H., Vallejo G., Arias J.L. Changes in brain oxidative metabolism induced by water maze training // Neurosci. — 2007. — Vol. 145. — P. 403—412.

17. Evarts E.V. Pyramidal tract activity associated with a conditioned hand movement in the monkey // J. Neurophysiol. — 1966. — Vol. 29, №6. — P. 1011—1026.

18. French-Mullen J.M.H., Hori N., Nakanishi H. et al. Asymmetric distribution of acetylcholine receptors and M channels on prepyriform neurons // Cellular and Molecular Neurobiol. — 1983. — Vol. 3, №2. — P. 163—181.

19. Fox P.T., Raichle M.R., Mintun M.A., Dence C. Nonoxidative glucose consumption during focal physiologic neural activity // Science. — 1988. — Vol. 241, №4864. — P. 462—464.

20. Godfraind J.M., Kawamura H., Krnjevic K., Pumain R. Actions of dinitrophenol and some other metabolic inhibitors on cortical neurones // J. Physiol. — 1971. — Vol. 215, №1. — P. 199—222.

21. Hori Y., Minamimoto T., Kimura M. Neuronal encoding of reward value and direction of actions in the primate

putamen // J. Neurophysiol. — 2009. — Vol. 102. — P. 3530—3543.

22. Inglis F.M., Fibiger H.C. Increases in hippocampal and frontal cortical acetylcholine release associated with presentation of sensory stimuli // Neurosci. — 1995. — Vol. 66, №1. — P. 81—86.

23. Kasischke K.A., Vishwasrao H.D., Fisher P.J. et al. Neural activity triggers neural oxidative metabolism followed by astrocytic glycolysis // Science. — 2004. — Vol. 305, №2. — P. 99—103.

24. Klein W.L. Biochemistry and regulation of signal transduction by neural acetylcholine receptors // Current Topics in Cellular Regulation. — Vol. 24. Enzyme catalysis and control (Eds. M. DeLuca, H. Lardy, R.L. Cross). — Orlando: AP — 1984. — P. 129—144.

25. Krnjevic K., Pumain R., Renaud L. The mechanism of excitation by acetylcholine in the cerebral cortex // J. Physiol. — 1971. — Vol. 215, №1. — P. 247—268.

26. Laughlin S.B., Attwell D. Neural energy consumption and the representation of mental events // Brain Energetics and Neuronal Activity. (Eds. R.G. Shulman, D.L. Rothman). — Chichester: Wiley a.Sons, 2005. — P. 111—124.

27. Lecas J.-C., Requin J., Anger C., Vitton N. Changes in neural activity of the monkey precentral cortex during preparation for movement // J. Neurophysiol. — 1986. — Vol. 56, №6. — P. 1680—1702.

28. Lipton P. Ischemic cell death in brain neurons // Physiol. Rev. — 1999. — Vol. 79, №1. — P. 1131—1568.

29. MacGregor R.J. A model for responses to activation by axodendritic synapses // Biophys. Journal. — 1968. — Vol. 8, №3. — P. 305—318.

30. McCormick D.A., Prince D.A. Mechanisms of action of acetylcholine in the guinea-pig cerebral cortex in vitro // J. Physiol. — 1986. — Vol. 375. — P. 169—194.

31. Mednikova Y.S., Karnup S.V., Loseva E.V. Cholinergic excitation of dendrites in neocortical neurons // Neurosci. — 1998. — Vol. 87, №4. — P. 783—796.

32. Rall W., Burke R.E., Holmes W.R. et al. Matching dendritic neuron models to experimental data // Physiol. Rev. — 1992. — Vol. 72 (Suppl.). — P. S159—S186.

33. Swanson R.F., Morton M.M., Sagar S.M., Sharp F.R. Sensory stimulation induces local cerebral glycolysis: demonstration by autoradiography // Neurosci. — 1992. — Vol. 51, №2. — P. 451—461.

34. Williams S.R., Stuart G.L. Dependence of EPSP efficacy on synapse location in neocortical pyramidal neurons // Science. — 2002. — Vol. 295. — P. 1907—1910.

Поступила 21.03.12

Сведения об авторах:

Кожечкин Сергей Николаевич, канд. мед. наук, вед. науч. сотр., лаб. фармакологической регуляции состояний зависимости ФГБУ «НИИФ им. В.В. Закусова» РАМН

Копытова Фелицата Владимировна, канд. биол. наук, старш. науч. сотр., лаб. функциональной синаптологии ФГБУН «НЦН» РАМН

Коштоянц Олег Хачатурович, д-р биол. наук, старш. науч. сотр. лаб. нейрохимических механизмов обучения и памяти ФГБУ «ИВНД и НФ» РАН