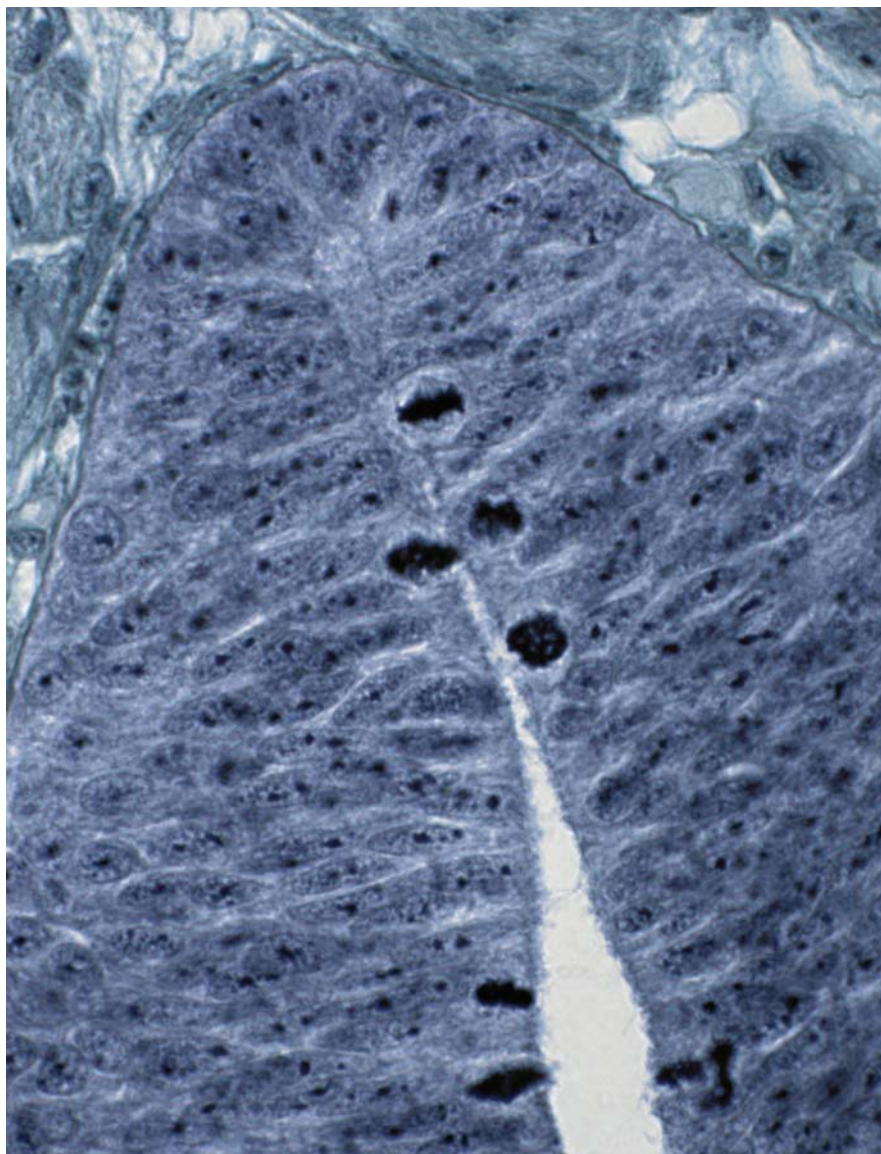


НЕЙРОН

Обработка сигналов.

Пластичность. Моделирование

Фундаментальное руководство



Молодые нейроны в формирующемся переднем мозге личинки муксуна на 30-й день после вылупления. В вентрикулярной зоне видно образование новых нейроцитов путем деления нейральных прогениторов — клеток-предшественников. Темным окрашены хромосомы, находящиеся в делящихся клетках в различных фазах митоза (*Лаборатория реконструкции биосистем биологического факультета ТюмГУ, 2005 г.*).

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ

ГОУ ВПО ТЮМЕНСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ПРИОРИТЕТНЫЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ПРОЕКТ «ОБРАЗОВАНИЕ»
ИННОВАЦИОННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ПРОГРАММА ТюмГУ

ЦЕНТР ТРАНСЛЯЦИИ И ЭКСПОРТА ОБРАЗОВАТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ

Александров Ю. И., Анохин К. В., Безденежных Б. Н.,
Гарина Н. С., Греченко Т. Н., Латанов А. В.,
Палихова Т. А., Савельев С. В., Соколов Е. Н.,
Тушмалова Н. А., Филиппов В. А., Черноризов А. М.

НЕЙРОН

Обработка сигналов.

Пластичность. Моделирование

Фундаментальное руководство



Выполнено в рамках Инновационной
образовательной программы ТюмГУ



Издательство
Тюменского государственного университета
2008



ООО «Компания Мир», 2008

УДК 612.8.01(075.8)
ББК Е991я73
Н463

Ю. И. Александров, К. В. Анохин, Б. Н. Безденежных, Н. С. Гарина, Т. Н. Греченко, А. В. Латанов, Т. А. Палихова, С. В. Савельев, Е. Н. Соколов, Н. А. Тушмалова, В. А. Филиппов, А. М. Черноризов. НЕЙРОН. ОБРАБОТКА СИГНАЛОВ. ПЛАСТИЧНОСТЬ. МОДЕЛИРОВАНИЕ: Фундаментальное руководство. Тюмень: Издательство Тюменского государственного университета, 2008. 548 с.

Предназначено для студентов, включая бакалавров и магистров, по направлениям и специальностям высшего профессионального образования «Биология», «Физиология», «Биоинженерия и биоинформатика», «Психология», «Клиническая психология», «Автономные информационные и управляющие системы», «Автоматизированные системы обработки информации и управления», а также для аспирантов и специалистов, работающих в областях биологии клетки, нейробиологии, психофизиологии, физиологии высшей нервной деятельности, математической биологии и биоинформатики, вычислительных нейронаук и моделирования нейросистем.

Подготовлено в рамках Инновационной образовательной программы ТюмГУ «Формирование инновационного научно-образовательного комплекса Тюменского государственного университета для обеспечения эффективности природопользования в условиях интенсивного освоения ресурсов Западной Сибири».

Под редакцией **Е. Н. Соколова, В. А. Филиппова, А. М. Черноризова**

Рецензенты: **В. Н. Кутрунов**, доктор физико-математических наук, профессор, заведующий кафедрой алгебры и математической логики Института математики и компьютерных наук Тюменского государственного университета

С. С. Трофимов, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории психофармакологии ГУ НИИ Фармакологии им. В. В. Закусова РАМН

В. В. Шульговский, доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой высшей нервной деятельности биологического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

ISBN 978-5-400-00005-8

© ГОУ ВПО Тюменский государственный университет, 2008

© Ю. И. Александров, К. В. Анохин, Б. Н. Безденежных, Н. С. Гарина, Т. Н. Греченко, А. В. Латанов, Т. А. Палихова, С. В. Савельев, Е. Н. Соколов, Н. А. Тушмалова, В. А. Филиппов, А. М. Черноризов, 2008

ОГЛАВЛЕНИЕ

Сведения об авторах руководства	6
Предисловие	8

Раздел I. НЕЙРОН КАК БАЗОВЫЙ ЭЛЕМЕНТ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Глава 1. Нейронная доктрина	12
Глава 2. Активный нейрон	33

Раздел II. НЕЙРОН В ФИЛОГЕНЕЗЕ

Глава 3. Память донервных организмов (о физиологических механизмах поведения простейших)	60
Глава 4. Происхождение нервных клеток	72

Раздел III. ОБРАБОТКА СИГНАЛОВ В НЕЙРОНЕ, НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ И ПАМЯТЬ

Глава 5. Мембранная нейрорецепция	94
Глава 6. Электрическая активность нейрона	132
Глава 7. Синаптическая передача сигналов	197
Глава 8. Синаптическая пластичность	228
Глава 9. Нейрогенетический механизм формирования следа долговременной памяти	247
Глава 10. Нанонейроника памяти	268

Раздел IV. ОРГАНИЗАЦИЯ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ НЕЙРОЦИТОВ (СЕНСОРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ, ПЕЙСМЕКЕРНЫЕ НЕЙРОНЫ, ГЛИЯ)

Глава 11. Рецепция в сенсорных системах: механорецепция, хеморецепция, терморецепция, ноцицепция	280
Глава 12. Рецепция в сенсорных системах: фоторецепторы	292
Глава 13. Пейсмеркерная активность нейронов: происхождение и функции	324
Глава 14. Глия: морфология, физиология и функции	433

Раздел V. МОДЕЛИРОВАНИЕ НЕЙРОНА

Глава 15. Нейрон как объект моделирования	468
Глава 16. Простые формальные модели нейрона	490
Глава 17. Биологически правдоподобные модели обработки сигналов нейроном	512
Глава 18. Портретные модели нейронов	535

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ РУКОВОДСТВА:

Александров Юрий Иосифович — доктор психологических наук, профессор, заведующий лабораторией нейрофизиологических основ психики им. В. Б. Швыркова Института психологии РАН (*Глава 2*).

Анохин Константин Владимирович — доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, член-корреспондент РАМН, заведующий отделом системогенеза Научно-исследовательского института нормальной физиологии имени П. К. Анохина Российской академии медицинских наук, руководитель Российско-Британской лаборатории нейробиологии памяти (*Глава 9*).

Безденежных Борис Николаевич — доктор психологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нейрофизиологических основ психики им. В. Б. Швыркова Института психологии РАН (*Глава 1*).

Гарина Наталья Сергеевна — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова (*Глава 12*).

Греченко Татьяна Николаевна — доктор психологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории нейрофизиологических основ психики им. В. Б. Швыркова Института психологии РАН (*Глава 13*).

Латанов Александр Васильевич — доктор биологических наук, профессор кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова (*Главы 5 и 6, параграфы 7.2.3.2 и 7.3 главы 7, глава 8 (совместно с Т. А. Палиховой), глава 11*).

Палихова Татьяна Анатольевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник факультета психологии Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова (*Глава 7, за исключением параграфов 7.2.3.2 и 7.3, глава 8 (совместно с А. В. Латановым)*),

Савельев Сергей Вячеславович — доктор биологических наук, профессор, руководитель отдела эмбриологии, руководитель лаборатории развития нервной системы НИИ морфологии человека РАМН (*Глава 4*).

Соколов Евгений Николаевич — доктор биологических наук, заслуженный профессор Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, академик РАО, приглашенный профессор Массачусетского технологического института, член Национальной Академии наук США, член Академии наук Финляндии, Почетный член Международной ассоциации психофизиологов, член Центрального совета Международной организации по исследованию мозга при ЮНЕСКО (*Глава 10*).

Тушмалова Нина Александровна — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией «Эволюция механизмов памяти» кафедры высшей нервной деятельности биологического факультета Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова (*Глава 3*).

Филиппов Вадим Анатольевич — кандидат социологических наук, проректор Тюменского государственного университета по новым образовательным и информационным технологиям (*Раздел 5 — главы 15, 16, 17, 18*).

Черноризов Александр Михайлович — доктор психологических наук, профессор, заведующий кафедрой психофизиологии факультета психологии Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова (*Глава 14*).

ПРЕДИСЛОВИЕ

Клеточная теория строения нервной системы («нейронная доктрина»), сформулированная в жарких дискуссиях конца XIX в., остается концептуальным ядром современных наук о мозге. Это знаменательным образом отражено в собирательном термине «нейронауки», используемом в настоящее время для обозначения широкого спектра научных дисциплин, нацеленных на изучение разных аспектов клеточной активности, — нейрофизиологии, биохимии, биофизики, молекулярной биологии, нейрогенетики, нейроэндокринологии и многих других. Нейрон и другие клетки нервной системы (рецепторы, глия) «смотрятся в зеркала» такого большого числа разных наук, что возникает необходимость собрать все эти «отображения» в единый «образ». Эту сложную задачу и ставит перед собой руководство.

Конечная цель данного и последующих изданий книги — создать постоянно обновляющийся «корпус» данных о нейроне и нервной активности. Нарастающий по экспоненте объем этих данных, которые можно уподобить «разбегающейся Вселенной», не могут быть охвачены арифметическим образом, но только на системной основе. В качестве «системобразующих» тем для фундаментального руководства мы выбрали те области знаний о нейроне, которые революционизировали классическую «нейронную доктрину», трансформировав ее в «нейронную доктрину XXI века». Среди этих тем теоретического и фактологического плана выделим следующие.

— Системные представления о нейроне как «активном», а не «реактивном» элементе нейронной сети (*Раздел 1*).

— Данные сравнительно-анатомических и нейробиологических исследований организмов с донервной организацией (простейших), проливающие свет на происхождение и эволюцию нервных клеток (*Раздел 2*).

— Современные данные молекулярной биологии о мембранных механизмах нейрорецепции, сигнальных системах первичных и вторичных мессенджеров (*Раздел 3, глава 5*).

— Данные нейрофизиологии об ионных механизмах генерации локальных постсинаптических потенциалов и потенциалов действия,

механизмах их пространственно-временной суммации и проведения (*Раздел 3, глава 6*).

— Данные электрофизиологии и молекулярной биологии о механизмах пре- и постсинаптической пластичности (*Раздел 3, главы 7 и 8*).

— Исследования роли генома и других субклеточных структур (шипов дендрита, пресинаптических бутонов, нейрофиламентов) в формировании следов памяти и даже сознательного поведения (*Раздел 3, глава 9*). Клеточные операции, которые определяются этими «нанообъектами», реализуются на молекулярном и субмолекулярном уровнях и являются предметом изучения для нового направления в нейронауках — «нанонейроники» (*Раздел 3, глава 10*).

— Данные анатомии и электрофизиологии, касающиеся сходств и различий трансдукции сигналов в классических нейронах (мембранной нейрорецепции), пейсмекерных нейронах и сенсорных рецепторах (*Раздел 4, главы 11–13*).

— Данные нейрофизиологии и молекулярной биологии, вскрывающие важную роль глии в процессах памяти, обучения и мышления. Это кардинально меняет традиционную точку зрения на клетки глии как на «вспомогательные» элементы (клетки-спутники) нервной системы (*Раздел 4, глава 14*).

— Современные представления о моделировании нейрона, которое в настоящее время приобретает все большую актуальность, являясь, во-первых, эффективным инструментом нейробиологических исследований нервной клетки как чрезвычайно сложной динамической системы, а во-вторых, — базой для создания искусственных нейросетевых интеллектуальных систем. Объединение в издании данных о живом нейроне и о технологиях его моделирования с помощью средств вычислительной техники стало одним из подходов, принятых при создании настоящего руководства (*Раздел 5*).

По единодушному решению авторского коллектива книга посвящается светлой памяти Евгения Николаевича Соколова (1920-2008), заслуженного профессора МГУ имени М. В. Ломоносова, академика РАО, члена Национальной Академии наук США и Американской Академии наук и искусств, Академии наук Финляндии, лауреата самой высокой награды Международной психофизиологической ассоциации — «Премии столетия—1998». Е. Н. Соколов — лидер одной из ведущих школ в отечественной психофизиологии, ученый с мировым именем, активный организатор нейронаук в России и за рубежом. С его именем связаны фундаментальные исследования в области психофизиологии,

нейрофизиологии и моделирования мозговых механизмов высших психических функций. Евгений Николаевич придавал огромное значение изучению нейронной активности мозга и на I Международном психофизиологическом конгрессе в 1982 г. (г. Монреаль), вместе с другой легендой нейронауки Х. Дельгадо, провидчески отстаивал определение психофизиологии как науки о нейронных механизмах психических процессов и состояний. Светлая память о нашем Учителе Евгении Николаевиче Соколове навсегда сохранится в наших сердцах и наших делах.

Авторы руководства выражают глубокую признательность руководству Тюменского государственного университета за приглашение участвовать в этом крайне актуальном и перспективном издании.

Редакционный совет

**Раздел I. НЕЙРОН
КАК БАЗОВЫЙ ЭЛЕМЕНТ
НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ**

Глава 1. НЕЙРОННАЯ ДОКТРИНА

Глава посвящена описанию строения и функции нейрона. Предварительно дана историческая справка о возникновении такой научной проблемы, как нейронная доктрина. Представлены основные положения доктрины. Описаны основные внутринейронные включения и их роль в поддержании активности нейрона. Показана роль мембранных белков в обеспечении целостности нейрона и его функций. Описаны концепции возникновения потенциала покоя и потенциала действия на мембране нейрона.

1.1. История формирования и основные положения нейронной доктрины

В 1838 г. два немецких ученых — Матиас Джакоб Шлейден и Теодор Шванн — сформулировали смелую для того времени клеточную теорию, смысл которой заключался в том, что все растительные, органические ткани, в том числе и нервная ткань, состоят из клеток. Дальнейшее развитие клеточной теории применительно к нервной ткани развивалось итальянским анатомом Камилло Гольджи, испанским гистологом Сантьяго Рамон-и-Кахалом и другими выдающимися морфологами XIX в. Авторы показали, что нейроны в отличие от соматических клеток имеют отростки, аксоны и дендриты, с помощью которых нервные клетки соединяются друг с другом (Шеперд, 1987). Однако на прокрашенных по методу Гольджи препаратах мозга им не удалось увидеть реальных связей между нейронами. Причиной являлись миелиновые клетки, обволакивающие отростки нейронов. Поэтому у двух великих ученых — Кахала и Гольджи, — получивших за свои исследования общую Нобелевскую премию, были существенные разногласия относительно принципов строения нервной системы.

Гольджи считал, что отростки нейронов представляют обширную сеть анастомозов в сером веществе, которые объединяют нейроны друг с другом, — *ретикулярная гипотеза*. Сторонники ретикулярной гипотезы считали, что по этим анастомозам нейроны могут обмениваться веществами плазмы.

Кахал отстаивал точку зрения о том, что нейроны изолированы друг от друга и являются структурными элементами ЦНС. Какие для этого были доказательства?

1) Кахал улучшил гистологическую технику Гольджи, а для препаратов брал мозги молодых животных и мозги птиц, в которых было

большое количество немиелинизированных аксонов. На основании рисунков своих препаратов различных областей мозга Кахал показал, что между нейронами нет непрерывной связи. 2) Существуют эмбриологические доказательства того, что нейроны не переходят один в другой с помощью отростков. Так, Вильгельм Гис, как и Рамон-и-Кахал, в 1886 г. документально доказал, что дендриты и аксоны в мозге эмбрионов растут более интенсивно у незрелых нейронов. Отсюда и гипотеза, что между нейронами существуют контакты, стала более вероятной, чем гипотеза анастомозов. В то же время Гис считал, что ученые придут к идее не прямой передачи возбуждения между нейронами. 3) Еще одним доказательством контактной связи между нейронами является открытие швейцарского ученого Августа-Генри Фореля. В 1886 г. он обнаружил, что если разрушено тело нейрона или перерезан аксон, то дегенеративные процессы нейрона заканчиваются в местах его контакта с другими нейронами. Этот факт дал окончательные и убедительные основания утверждать о морфологически раздельном существовании нейронов.

После длительной дискуссии относительно природы связей между нейронами в ЦНС немецкий анатом Генрих Вильгельм вон Вальдейер написал в 1891 г. серьезный научный обзор, в котором подверг резкой критике идеи ретикулярного принципа строения нервной системы. Он полностью обосновал и поддержал идею Кахала и, основываясь на работах Фореля, Гиса и других ученых, дал ей название нейронная доктрина или нейронная теория (Шеперд, 1987).

Нейронная доктрина основана на целом ряде принципов.

1) Нейрон является структурной и функциональной единицей нервной системы. Нервная клетка имеет несколько протоплазматических выростов (дендриты) и одно волокно, или осевой цилиндр (аксон), который на конце разветвляется на множество коллатералей (Рис. 1.1). Коллатерали аксона контактируют с другими нервными клетками. Термин «дендрит» был предложен Гисом в 1889 г., «аксон» — Колликером в 1896, «нейрон» — Вальдейером в 1891 г. Нейроны являются отдельными клетками, которые не переходят один в другой ни анатомически, ни генетически.

2) Нейрон является эмбриологической единицей (единицей развития). Показано, что аксон и дендриты нервной клетки растут от тела клетки во время всего эмбрионального развития и их рост завершается свободными окончаниями. Кахал обнаружил, что на конце растущего отростка имеется утолщение — растущий конус. Позднее Харрисон

(1907) показал, что растущие конусы способны совершать амебовидные движения, чтобы достичь конечной цели.

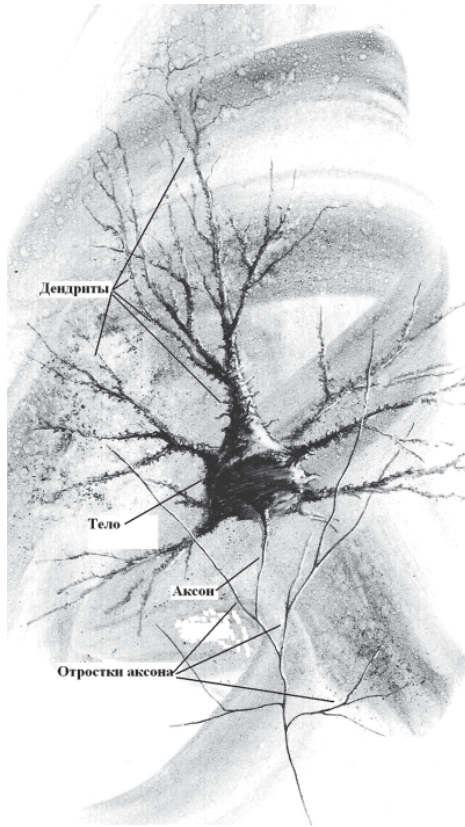


Рис. 1.1. Пирамидный нейрон (Cotman, McGaugh, 1980)

3) Кахал выявил характерные структуры на дендритах, которые по их виду были названы им «шипиками» (Рис. 1.2). Позднее будет доказано, что шипики являются частью синаптического аппарата на дендритах. При обучении количество шипиков увеличивается. Кахал предположил, что увеличение шипиков на дендритах может быть связано с обучением и формированием памяти.

4) Нейрон является метаболической (трофической) единицей: дистальный отдел нервного волокна дегенерирует в результате перерезки нервного волокна (антероградная дегенерация, Waller, 1852). После

перерезки клетки наблюдается атрофия тела клетки (ретроградная дегенерация, Gudden, 1870). Однако дегенерация не распространяется за пределы поврежденного нейрона.

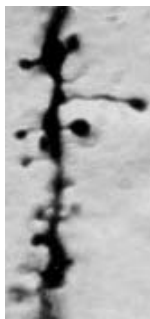


Рис. 1.2. Шипики на дендритах (Фотография Кахала)

5) Нервная система состоит из популяции нейронов, организованных в функциональные системы (Шеперд, с. 29).

6) В рамки нейронной доктрины включен и закон динамической поляризации, сформулированный Кахалом. Согласно этому закону потенциалы действия или возбуждение идет в одном направлении — в основном от рецептивной поверхности дендритов по телу и от тела на аксон — и завершатся на разветвлениях, контактирующих с другими нейронами. Закон основан на описании связей между нейронами в спинном мозге, мозжечке, гиппокампе, обонятельной луковице и сетчатке. Этот закон выступает, по мнению Кахала, как основной принцип функционирования нервных связей.

7) В 1943 У. С. Мак-Каллок и У. Питтс добавили, что в рамках информационной парадигмы нейрон является основной единицей обработки информации.

8) Окончательным подтверждением нейронной доктрины стало подтверждение существования синапсов с помощью электронной микроскопии (Palade and Palay, 1954; DeRobertis, 1954).

1.2. Ранние представления о функции нейрона

Помимо структурного описания нейрона как единицы нервной системы, исследователи 19 века пытались выяснить и функциональные особенности нейронов. Так, Кахал считал вполне вероятным, что «психические упражнения», т.е. обучение, ведут к усиленному росту ней-

ронных отростков, сопроводив свою идею довольно колоритной аналогией. Он писал, что «свободное разветвление способных расти отростков нервных клеток можно рассматривать как совершенно очевидный факт. Постоянная раз и навсегда установленная система, например, телеграфная сеть, без возможности установления в ней новых станций или новых линий остается ригидной и немодифицируемой, что противоречит нашему представлению о мозге как структуре, легко претерпевающей изменения в определенных рамках при ментальных упражнениях и особенно в период развития. Если прибегнуть к свободной аналогии, то мы можем сказать, что кора мозга подобна саду с огромным количеством деревьев — пирамидных клеток, у которых, благодаря разумной культивации, разрастаются ветви (*дендриты*) и углубляются корни (*ответвления аксонов*), что способствует появлению все большего количества и разнообразия цветов и плодов» (цит. по Rosenzweig, 1996).

У Рамон-и-Кахала соединения между нейронами еще не имели своего названия. Название «синапс» ввел Шеррингтон в 1897 г. Он также считал, что синапс выполняет основную роль в механизмах обучения: «Лишенная возможностей воспроизведения и размножения самой себя с помощью митоза или каким-то другим способом, нервная клетка направляет свою затаенную энергию на увеличение своих связей с другими клетками в ответ на события, которые ее возбудили. Следовательно, в отличие от других тканей нервная ткань способна обучаться» (цит. по Rosenzweig, 1996).

1.3. Строение нейрона

Для вхождения в проблему активности нейрона в ЦНС (центральная нервная система) необходимо кратко остановиться на его морфологии.

Мембрана нейрона.

Нейроны обладают высоким уровнем морфологической и функциональной специализации, и первый уровень специализации проявляется в структуре и динамике его мембраны. Как показывают результаты электронной микроскопии, плазматическая мембрана нейронов имеет такое же строение, что и у соматических клеток: она построена из липидов и протеинов (цепочек аминокислот) (Рис. 1.3). Основная структура мембраны двухслойная и представляет собой «сэндвич» из фосфолипидов, которые расположены таким образом, что полярные (заряженные) части прилежат к наружной части мембраны, а незаряженные части направлены вовнутрь клетки. Такая организация максимизирует число

гидрофобных и гидрофильных соединений, которые могут формировать и делать относительно прочной и очень тонкой оболочку, непроницаемую для большинства полярных молекул или ионов. Мембрана является динамичной, и часто ее описывают как «жидко-мозаичную» структуру (Singer, Nicolson, 1972). Липиды свободно диффундируют с одного участка на другой, обеспечивая тем самым мембране свойства жидкости. Два жидких липидных слоя мембраны (наружный и внутренний) позволяют свободно плавать в ней специализированным белкам и выполнять им свои функции. Белки могут проникать через оба слоя, образуя каналы для транспорта через них ионов и небольших молекул. Такие «интегральные белки» часто формируют межмембранные структуры. Другие, «периферические белки», локализованы только в наружной или внутренней мембранах, они подвижны и выполняют определенные функции. В жидкой мембране белки часто рассматриваются как частицы мембраны, произвольно плавающие в море липидов. Следует отметить, что белки, проникающие через оба слоя мембраны, находясь одним концом снаружи, а другим внутри клетки, превращают участки мембраны в функциональные единицы, обеспечивающие определенные потребности нейрона.

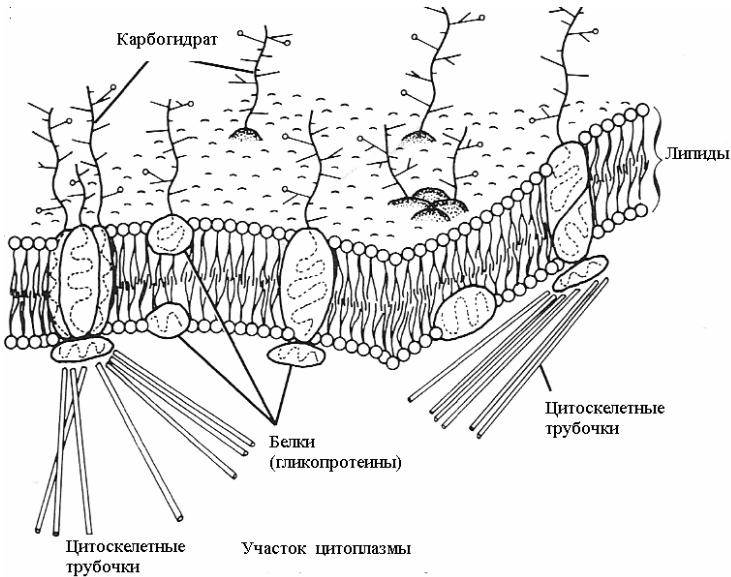


Рис. 1.3. Схема строения мембраны нейрона

Мембрана нейрона неоднородна, некоторые авторы выделяют в ней такие специфические участки, как дендритную зону с большим количеством синаптических контактов и пресинаптическую зону аксона. Кроме того, мембрана нейрона является асимметричной. На ее наружной части (как и на мембране соматических клеток) находится большое количество углеводов сиаловой кислоты, которые обеспечивают отрицательный заряд наружной поверхности мембраны.

Белки мембраны.

По своей функции делятся на насосы, каналы, рецепторы, ферменты и структурные белки. Насосы обеспечивают перемещение ионов и молекул против концентрационных градиентов и поддержание их необходимых концентраций в клетке. Поскольку заряженные молекулы не могут пройти через двойной липидный слой, в мембранах есть набор специфических белковых каналцев, по которым вовнутрь клетки проходят определенные ионы. Клеточные мембраны с помощью рецепторных белков узнают и прикрепляют к себе разные молекулы. Ферменты размещаются внутри мембраны или на ней и облегчают протекание химических реакций у поверхности мембраны, например АТФаза, которая расщепляет АТФ — универсальную единицу топлива — для обеспечения теплом локальных химических процессов. Структурные белки обеспечивают соединение клеток в органы и поддержание субклеточной структуры. Не у всех мембранных белков функция жестко фиксирована. Некоторые белки могут выполнять одновременно функции рецептора, фермента и насоса.

Кроме ионных насосов и каналцев, для выполнения основных функций нейрона требуются и другие белки. Одним из таких белков является фермент аденилатциклаза, который регулирует внутриклеточную концентрацию циклического аденозинмонофосфата (циклического АМФ — цАМФ). Циклические нуклеотиды, такие, как цАМФ, называют «вторичными мессенджерами». Внутри клетки цАМФ «собирает» информацию от первичных мессенджеров (нейромедиаторов) и подготавливает цитоплазму к возможным изменениям ее метаболизма. Основная гипотеза заключается в том, что повышение концентрации цАМФ в ответ на поступление на постсинаптические рецепторы таких нейромедиаторов, как норадреналин и дофамин, ведет к повышению активности протеинкиназы, которая (1) фосфорилирует определенные белки мембраны и изменяет проницаемость мембраны, (2) изменяет метаболические процессы в клетке за счет активации и индукции некоторых ферментов и белков. Общее заключение: цАМФ каким-то образом устанавливает уровень возбудимости нейрона (Cotman, McGaugh, 1980)

Понимание функций мембранных белков — один из этапов на пути к пониманию функций нейрона. Подобно всем другим клеткам организма, в нейроне поддерживается постоянство внутренней среды, которая существенно отличается от окружающей нейрон межклеточной жидкости. Особенно выражены различия в концентрациях ионов натрия и калия (Na^+ , K^+). Наружная среда приблизительно в 10 раз богаче Na^+ , чем внутренняя, а внутренняя среда в 10 раз богаче K^+ , чем межклеточная жидкость. Данное различие в концентрации ионов натрия и калия лежит в основе поддержки и развития электрических потенциалов на мембране нервных клеток.

2. Ядро (Рис. 1.4).

В каждой нервной клетке есть ядро, в котором хранится генетический материал в виде хромосом. Хромосомы состоят из дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и белков, которые вместе образуют гены. Во время эмбрионального развития гены контролируют синтез белка и через белки обеспечивают дифференцировку клетки, ее конечную форму и синаптические связи с другими клетками. В зрелом состоянии нейрона гены через контроль над синтезом белка контролируют активность нейрона. Ядро отделено от цитоплазмы двумя мембранами, которые в некоторых местах сходятся и образуют поры, через которые осуществляется обмен веществ между цитоплазмой и содержимым ядра.

3. Митохондрии (Рис. 1.4).

Нейрон для выполнения своих функций нуждается в большом количестве энергии. Макроэргическая молекула АТФ (аденозинтрифосфорная кислота) является основным источником энергии. Подвижные и пластичные митохондрии представляют собой окруженные двойной мембраной органеллы, в которых осуществляется синтез АТФ. Обычно митохондрии представляют собой мелкие (длиной 0,5-3 мкм) внутриклеточные образования, которые за счет своей подвижности располагаются в тех местах, где необходима энергия для поддержания химических процессов.

Для обеспечения внутриклеточных химических процессов теплом происходит расщепление (гидролиз) АТФ: от нее отделяется ион фосфора и энергия, которая удерживала этот ион с ионом АДФ (аденозиндифосфорная кислота). Энергия идет на поддержание химических процессов в нейроне, а АДФ⁻³ и P^{+3} поступают в митохондрии, в которых выделяющаяся от окисления глюкозы энергия идет на соединение этих ионов и образование АТФ.

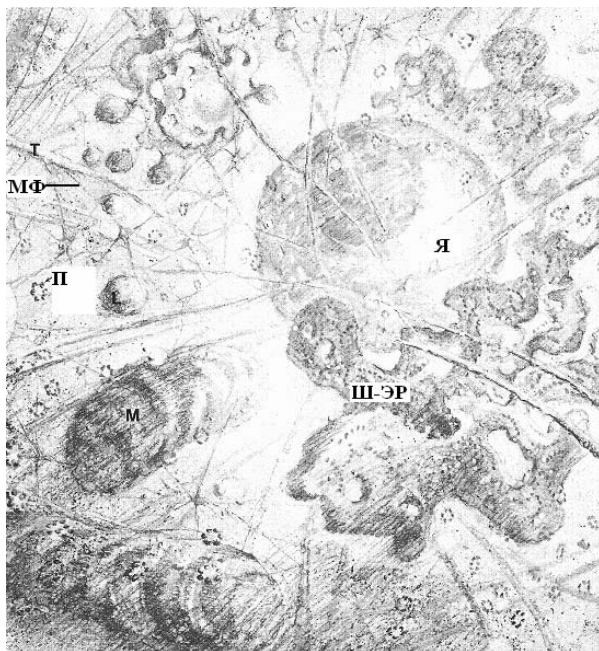


Рис. 1.4. Внутреннее содержимое тела клетки: Я— ядро, П — полисомы, Т— микротрубочки, М — митохондрии, МФ — микрофиламенты, Ш-ЭР — шероховатый эндоплазматический ретикулум.

4. Строительные белки-рибосомы, шероховатый эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи (Рис. 1.4)

Эти структуры обеспечивают синтез белка в нейроне и его встраивание в структуры мембраны. Белки нейронов, как и других клеток, нуждаются в постоянном обновлении. Без обновления белков нейрон может прожить несколько дней. В цитоплазме тела нейрона находится большое количество кластеров рибосом. Рибосомы имеют размер около 4 нм в диаметре и сформированы из белков и рибонуклеиновой кислоты. Кластеры рибосом, называемых полисомами, осуществляют в цитоплазме синтез растворимых белков, в том числе ферментов. Отдельные рибосомы в полисомах связаны с информационной РНК (иРНК). иРНК является длинной цепочкой нуклеиновых кислот, представленных четырьмя нуклеотидами: аденином, гуанином, цитозином и урацилом. Последовательность этой нуклеотидной цепочки кодирует последовательность аминокислот в синтезируемом белке. Специальная транспортная РНК (тРНК)

«распознает» определенную тринуклеотидную цепочку на матричной РНК (мРНК) и связывает с ней определенную аминокислоту. По мере синтеза белка мРНК продвигается через рибосому и к ее тринуклеотидным цепочкам тРНК последовательно присоединяют разные аминокислоты до тех пор, пока мРНК не закончится. Затем цепочка аминокислот выходит в цитоплазму (Ленинджер, 1982)

Синтез мембранных белков и их включение в мембраны осуществляется с помощью *шероховатого поверхностного эндоплазматического ретикула* (шероховатого ЭР), гладкого эндоплазматического ретикула (гладкого ЭР) и аппарата Гольджи. Шероховатый ЭР представляет собой лабиринтную систему мембранных трубок, пузырьков и цистерн, чья выступающая вовнутрь нейрона поверхность усыпана рибосомами, связанными друг с другом с помощью мРНК. Отсюда и термин «шероховатая поверхность». Мембранные белки внедряются в шероховатый ЭР. Гладкий ЭР является продолжением шероховатого ЭР и лишен рибосом. Гладкий ЭР вовлечен в распределение белка по нейрону: а именно по нему вновь синтезированные белки доставляются в дендриты. Из гладкого ЭР белки транспортируются в аппарат Гольджи, где они могут быть модифицированы, например если этот белок относится к гликопротеинам, то к нему добавляется углеводород. Белки в аппарате Гольджи концентрируются и затем «упаковываются» в мембранных пузырьках и изолируются для последующей поставки его в другие участки клетки. По соседству с аппаратом Гольджи лежат «облачки» мелких пузырьков, которые, возможно, транспортируют синтезированные белки в разные участки нейрона.

Лизосомы.

Лизосомы относятся к внутриклеточной пищеварительной системе. Эта структура, как и ретикулум, заключена в мембрану. Лизосомы не имеют определенной формы или размера. Они содержат разнообразные гидролитические ферменты, которые расщепляют и переваривают множество соединений, появляющихся как внутри, так и вне клетки. Перевариваемые вещества могут быть внутриклеточными, и такое переваривание называют *аутофагией*. Переваривание лизосомами внеклеточных веществ получило название *гетерофагия*.

Цитоскелетная сеть.

В теле и отростках нейрона имеется обширная цитоскелетная сеть, состоящая из микротрубочек, нейрофиламентов и микрофиламентов (Рис. 1.4). Они проходят через весь нейрон, соединяя все его части. Эта сеть является каркасом нейрона, поддерживая определенную его фор-

му. С другой стороны, цитоскелетная сеть выполняет транспортную функцию. В теле клетки микротрубочки и более мелкие трубочки, нейрофиламенты и микрофиламенты, занимают большую ее часть, не занятую другими органеллами, и из тела нейрона все эти трубочки проникают в дендриты и аксоны.

Микротрубочки состоят из длинных неразветвленных трубочек разной длины. Стенки их построены из субъединиц специфического белка — тубулина (от лат. *tubula* — трубочка). *Нейрофиламенты* тоньше микротрубочек. Они тоже имеют трубчатое строение и встречаются только в нейронах. Показано, что в крупных аксонах их значительно больше, чем микротрубочек, тогда как в мелких аксонах и дендритах их соотношение противоположное. Нейрофиламенты и их соотношение с микротрубочками меняются при старении. При болезни Альцгеймера они превращаются в клубочки и бляшки. Предполагается, что микротрубочки и нейрофиламенты в аксонах и дендритах выполняют транспортную функцию между телом и отростками нейрона в обоих направлениях: от тела к отросткам — *антероградный* транспорт, от отростков к телу — *ретроградный* транспорт.

Данная гипотеза была подтверждена экспериментально. После инъекции меченых аминокислот вблизи тела клетки методом радиографии было показано, что эти аминокислоты поглощаются телами нейронов и включаются в белок, который затем переносится по аксону и его коллатералям. В этих экспериментах были выявлены два типа аксонного транспорта: медленный транспорт, идущий со скоростью 1 мм в сутки, и быстрый, идущий со скоростью несколько сотен миллиметров в сутки. Многие переносимые вещества связаны с функциями синаптической передачи.

Микрофиламенты присутствуют в большом количестве в нервных отростках. Их много в нейроглии, и они участвуют в некоторых связях между нейронами (Шеперд, 1997).

Дендриты.

Дендриты при всем их разнообразии среди нейронов содержат те же органеллы, кроме ядра, что и тело. В большей части дендритов параллельно проходит большое количество микротрубочек. С другой стороны, в дендритах находится лишь небольшое количество нейрофиламентов. Митохондрии ориентированы вдоль дендрита и достигают по длине 9 мкм. Шероховатый ЭР хорошо выражен лишь в начале дендрита; по мере удаления его от тела ЭР исчезает. Гладкий ЭР распространен по всей длине дендритов. Он проходит параллельно

микротрубочкам и микрофиламентам, образуя по своему курсу небольшие выпячивания. Считается, что гладкий ЭР распространен по всему дендриту и транспортирует разные химически вещества. Основная часть белка синтезируется в теле клетки, но некоторые белки синтезируются в проксимальных участках дендритов, где локализована большая масса гладкого ЭР. Эти белки транспортируются в дистальные отделы дендритов с помощью цистерночек и гладкого ЭР вдоль поверхности системы микротрубочек. Белки, которые синтезируются в теле клетки, транспортируются в дендриты также с помощью гладкого ЭР.

На дендритах располагается большое количество шипиков, на которых находятся в основном аксо-дендритные синапсы. Например, на дендритах пирамидных нейронов в среднем локализовано около 4000 шипиков, что составляет примерно 43% от всей синаптических контактов этих нейронов (Рис. 1.2) (Cotman, McGaugh, 1980).

Каждый шипик представляет собой выпячивание на дендрите длиной около 2 мкм, которое состоит из тонкой шейки, заканчивающейся яйцеобразным выпячиванием. Цитоплазма шипиков заполнена тонкими филаментами и очень небольшим количеством микротрубочек. Как было сказано выше, шипики включены в синаптические структуры.

Аксон.

В отличие от дендритов аксон является обычно одиночным отростком. В нем нет шероховатого ЭР, рибосом, но он содержит митохондрии, большое количество нейрофиламентов, микротрубочки, гладкий ЭР и небольшое количество лизосом. Часть гладкого ЭР, цистерны разной формы, соединены друг с другом тонкими трубочками, и эта система идет вдоль всего аксона. Внутри аксон заполнен желеобразной аксоплазмой, которая удерживает его цитоскелетную сеть. У основного большинства крупных нейронов аксоны на всем протяжении покрыты оболочкой, называемой миелином. Миелин никогда не покрывает дендриты. Известно, что миелин производится из плазматической мембраны глиальных клеток, которые обматывают аксон. В периферической нервной системе аксоны обматывают особые глиальные, или Шванновские клетки. Оголенные участки аксона между Шванновскими клетками называются перехватами Ранвье. В ЦНС миелиновые оболочки формируются олигодендроцитами. По миелинизированному аксону потенциалы действия проходят быстро за счет сальтаторного (прыжкообразного) перемещения от одного перехвата Ранвье к другому.

Синапс.

Нервно-мышечное соединение.

Все синапсы имеют одинаковую структуру. Пресинаптическая и постсинаптическая мембраны являются высокоспециализированными в месте контакта и образуют синаптическое соединение. Пресинаптическая бляшка, или терминаль аксона, содержит пузырьки диаметром около 20–65 нм, которые наполнены веществом — нейромедиатором. Наличие пузырьков и синаптического соединения является показателем химического синапса. Общие детали строения едины для всех синапсов, но тонкая структура синапсов зависит от особенностей пре- и постсинаптического нейронов, эта структура существенно различна в нервно-мышечном и межнейронных синапсах.

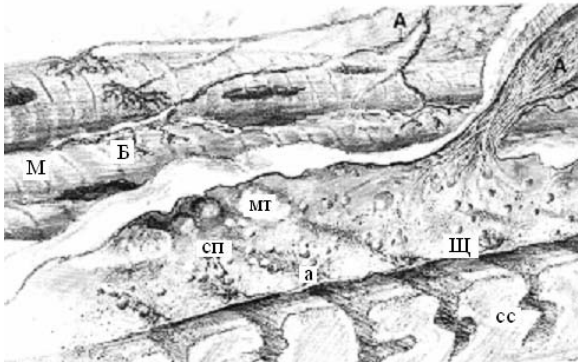


Рис. 1.5. Нервно-мышечное соединение: А — аксон, Б — синаптические окончания аксона в виде бляшек, М — мышца, мт — митохондрии, сп — синаптические пузырьки, а — активная зона, Щ — синаптическая щель, сс — соединительные складки мембраны мышечной клетки.

Непосредственно перед нейромускулярным соединением миелиновая оболочка на аксоне исчезает, и далее аксон, окруженный только тонким слоем цитоплазмы Швановских клеток, разделяется на веточки (коллатерали). В месте синаптического контакта коллатерали аксона с мышечной клеткой мембрана последней образует множество складок — соединительные складки. Пространство между пресинаптической и постсинаптической частями синапса получило название синаптической щели (Рис. 1.5). Синаптическая щель в нейромускулярном соединении шире, чем между нейронами ЦНС. В синаптических окончаниях аксонов имеется несколько митохондрий, сеть фиб-

розного белка, и множество синаптических пузырьков, содержащих нейромедиатор, а именно до 10000 молекул ацетилхолина, который вызывает возбуждающее действие на мембране мышечной клетки. Некоторые пузырьки распределены в случайном порядке по аксонной ветви, в то время как другие находятся вдоль пресинаптического участка — активной зоны, из которой они выделяются в синаптическую щель. Внутри двухслойной плазматической мембраны в активной зоне находятся внутримембранные частицы с участками, к которым крепятся пузырьки. При прохождении по аксону потенциала действия пузырьки подплывают к этим участкам и сливаются с ними (Рис. 1.6). Напротив активной зоны пресинаптической мембраны находятся функциональные складки мембраны мышечной клетки. Внутри мембраны, в основном в гребнях складок, имеется большое количество внутримембранных включений, с которыми, по-видимому, соединяется нейромедиатор.

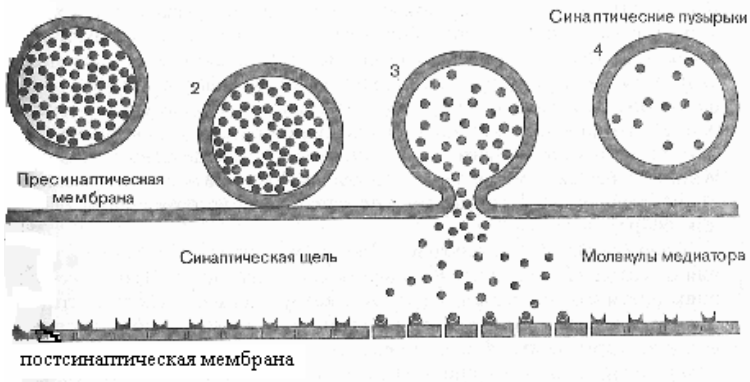


Рис. 1.6. Схема выделения нейромедиатора в синаптическую щель

Синапсы ЦНС.

Каждый синапс в ЦНС сформирован двумя нейронами — пре- и постсинаптическим. Как и в нейромускулярном соединении, в этих синапсах есть пре- и постсинаптическая мембраны, между которыми имеется синаптическая щель шириной порядка 20-50 нм. В пресинапсе находятся пузырьки с нейромедиатором, митохондрии, мембранные цистерночки, случайные микротрубочки и множество волокон. В ЦНС выделяют два типа синапсов. Синапсы ЦНС отличаются от синапсов нервно-мышечного соединения в нескольких аспектах. Если в нервно-

мышечном соединении ацетилхолин оказывает возбуждающее действие на мембрану мышечной клетки, то в ЦНС в одних межнейронных синапсах ацетилхолин оказывает возбуждающее действие на мембрану нейрона, в других синапсах — тормозное действие. Если в нервно-мышечных соединениях существует только один нейромедиатор, то в синапсах ЦНС насчитывается более 100 различных нейромедиаторов.

Первый тип синапсов имеет довольно типичную форму (см. рис. 1.7). Пресинаптическая мембрана аксона имеет множество уплотненных проекций на ее цитоплазматическую часть, а постсинаптическая мембрана дендрита также имеет уплотнения, но непрерывные, на цитоплазматической поверхности — постсинаптическое уплотнение. Типичная длина такого синаптического контакта примерно 5 мк. Синапсы 1-го типа являются самыми многочисленными; они всегда являются аксо-дендритными, формируются на шипиках дендрита и никогда не формируются на теле нейрона.

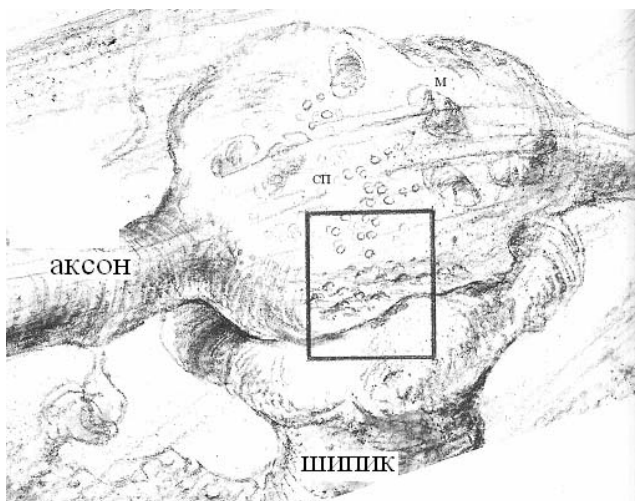


Рис. 1.7. Структура синапса 1-го типа: СП — синаптические пузырьки, М — митохондрии.

Уплотненные проекции пресинаптической мембраны представляют собой серии пирамид, организованных в гексагональные структуры (рис. 1.8). Активные зоны синапсов находятся в промежутках между этими структурами. В активных зонах находятся синаптические пузырьки, а также множество внутримембранных включений.

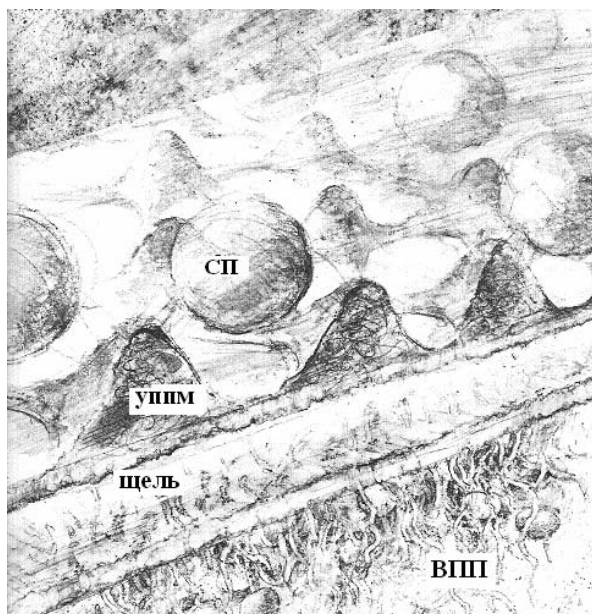


Рис. 1.8. Фрагмент, вынесенный из рис. 1.7 и увеличенный: СП — синаптические пузырьки, УППМ — уплотненные проекции пресинаптической мембраны, ВПШ — выпячивающая постсинаптическая плотность.

Постсинаптические уплотнения (ВПШ на рис. 1.8) представляют собой фиброзную ткань, напоминающую грубо сотканный ковер. Эта ткань лежит напротив постсинаптической мембраны. В этих уплотнениях срастаются тонкие волокна, к которым прикасаются микротрубочки, содержащие включения небольшого размера. Наружная поверхность постсинаптической мембраны, перекрывающая данное уплотнение, является чувствительной к определенному нейромедиатору; множество щетинок и волокон ориентированы в направлении синаптической щели, и некоторые из них соединяются с пресинаптической мембраной.

Второй тип синапсов никогда не формируется на шипиках. Они обычно локализованы на телах нейронов. Предполагается, что в отличие от синапсов 1-го типа синапсы 2-го типа являются тормозными синапсами. Основным признаком 2-го типа синапсов — это отсутствие выпячивающей постсинаптической плотности; область плазматической мембраны в синапсе очень тонкая.

1.4. Мембранные потенциалы

Уникальным свойством нервных и мышечных клеток является наличие электрических потенциалов на их мембранах. Мы не будем подробно рассматривать биофизические основы этих потенциалов. Они подробно описаны в специальных пособиях (Шеперд, 1987, т. 1). Отметим, что в основе потенциалов на мембранах клеток лежит разница ионов натрия и калия со стороны наружной и внутренней поверхностей мембраны. Во внешней среде ионов натрия примерно в 10 раз больше, чем ионов калия. Внутри нейронов соотношение количества этих ионов противоположное. Поскольку эти ионы способны легко проходить через каналцы мембраны, то существуют химические процессы, которые обеспечивают выкачивание ионов натрия из внутренней среды в обмен на ионы калия. Такая химическая реакция получила название *натрий-калиевый насос*, и она осуществляется внутренними мембранными белками (интегральные белки). У большинства нейронов имеется до 200 таких насосов на квадратный микрон мембраны. Насос может транспортировать около 200 ионов натрия наружу мембраны и 130 ионов калия вовнутрь нейрона в секунду, в результате чего наружная часть мембраны имеет положительный заряд относительно внутренней ее части. Этот электрический потенциал на мембране нервной и мышечной клетки получил название *потенциал покоя* (ПП). Величина ПП достигает 80 мВ. Каждый натрий-калиевый насос использует для своей работы энергию, получаемую от расщепления АТФ. Если учесть, что в нервной системе находится 10^{10} нейронов, то правомерен вопрос, для чего необходим ПП, если на его поддержание расходуется такое огромное количество энергии?

ПП как устойчивый электрический потенциал лежит в основе формирования *потенциала действия* (ПД). В результате химического, механического или электрического раздражения локального участка мембраны насос как бы поворачивается на 180° и закачивает вовнутрь ионы натрия. Проникшие в клетку ионы натрия приводят к тому, что внутренняя поверхность локального участка мембраны становится положительно зараженной относительно наружного участка. Изменение знака заряда (деполяризация) мембраны является неустойчивым состоянием: оно приводит к закрыванию натриевых каналов и открыванию калиевых каналов. Поток ионов калия наружу через 1,5–2 мс восстанавливает ПП на данном участке мембраны (реполяризация). Но этот участок мембраны в течение нескольких миллисекунд остается нечувствительным к различным воздействиям (период рефрактер-

ности). Деполяризация и реполяризация локального участка мембраны проявились в виде электрического импульса, который стал адекватным электрическим раздражением смежного участка мембраны, содержащий насос. В результате последовательного раздражения локальных участков мембраны аксона ПД доходит до синапса.

1.5. Синаптическая передача

Потенциал действия в окончании аксона приводит к открыванию химически управляемых кальциевых каналов и притоку кальция вовнутрь окончания, однако специальный механизм быстро устраняет свободный кальций из окончания аксона. Такой кратковременный подъем концентрации кальция в окончании аксона приводит к слиянию заполненных нейромедиатором пузырьков с пресинаптической мембраной и высвобождением нейромедиатора в синаптическую щель. Такой процесс выделения нейромедиатора в синаптическую щель получил название экзоцитоз (Рис. 1.6). Освободившись от нейромедиатора, слившийся с мембраной пузырек отделяется от нее и вновь наполняется нейромедиатором.

Есть и другая точка зрения, согласно которой молекулы нейромедиатора выходят в синаптическую щель через специальные каналы. Но в любом случае известно, что потенциал действия, дошедший по аксону до пресинапса, повышает его проницаемость для ионов кальция, которые устремляются в него и активируют выход нейромедиатора в синаптическую щель.

В противоположность активируемым ацетилхолином каналам нервно-мышечного синапса, всегда открывающимся на 1 мс, в некоторых типах мозговых синапсов имеются каналы, открывающиеся на доли миллисекунд, а другие могут оставаться открытыми сотни миллисекунд. Это различие объясняется тем, что в области нервно-мышечного соединения, например, у лягушки, аксон образует сотни синаптических контактов с мышечной клеткой, а в мозгу аксоны устанавливают только один-два синаптических контакта с данным нейроном.

Вышедшие в синаптическую щель молекулы нейромедиатора быстро проходят через наполненную жидкостью синаптическую щель и взаимодействуют с рецепторами постсинаптической мембраны. Рецепторы представляют собой крупные белковые молекулы, погруженные в полужидкую матрицу клеточной мембраны (см. рис. 1.3). Выходящий на поверхность участок рецепторного белка и молекула нейромедиатора имеют химическое средство наподобие ключа и замка. Взаимодей-

ствие нейромедиатора с рецептором меняет трехмерную структуру рецепторного белка. В нервно-мышечном соединении это взаимодействие вызывает развитие потенциала действия по мембране мышечной клетки и, как результат, приводит к ее сокращению; в железистой клетке происходит образование и выделение гормона или пищеварительных соков. Во всех случаях рецептор переводит сообщение, закодированное в молекулярной структуре нейромедиатора, в специфическую физиологическую реакцию.

Однако вопрос о том, какие процессы происходят в нейроне в ответ на поступление нейромедиатора к его постсинаптическим мембранам, остается не до конца изученным. По мнению П. К. Анохина, в первой трети прошлого века рассмотрение влияния от многочисленных синаптических притоков на активность нейрона сводилось только к анализу мембранных процессов. Одним из таких представлений о судьбе синаптических притоков, одновременно приходящих к нейрону, является «суммация» электрических потенциалов на его мембране. Согласно этим представлениям, нейрон в целом представляет собой некоторый электротонический пул с подвижным градиентом между отрицательным (дендритная часть) и положительным (аксонная часть) полюсами. Такое электрическое состояние мембраны нейрона объясняется постоянной деполяризацией мембраны дендритов синаптическими притоками. Когда достигается определенная разница между потенциалами дендритов и аксона на аксонном холмике (место выхода аксона от тела нейрона) срабатывает генераторный потенциал. Частота и паттерн электрических потенциалов будет определяться соотношением электроотрицательности и электроположительности на полюсах нейрона. Но этот подход не может объяснить многообразие нейромедиаторов, выделяющиеся на постсинаптические мембраны нейрона в разных его синапсах. С позиций этого подхода не понятно, «на основе каких конкретных механизмов многочисленные и разнородные возбуждения, пришедшие в данный момент к нейрону и принесящие свои индивидуальные информации, интегрируются в одно единственное аксональное возбуждение» (Анохин, 1974). Все последующие концепции суммации мембранных потенциалов, как и предшествующая концепция, отражают идею проведения возбуждения по нейрону наподобие проведения возбуждения по аксону или переносят акцент на накопление электрических потенциалов на мембране нейрона. Не приносит ясности в выявлении функции нейрона и оперирование такими понятиями, как возбуждательный и тормозный постсинаптические потенциалы, соответственно ВПСП

и ТПСР, потому что все опять упирается в не до конца понятные механизмы их суммации. П. К. Анохин приходит к заключению о том, что принятие примата мембранных и электрических процессов не дает возможности ответить на вопрос о главной функции нейрона — интегрировании им возбуждений, поступивших к нему через разные синаптические входы.

П. К. Анохин выдвигает гипотезу о том, что изменение проницаемости активности постсинаптической мембраны, вызванное нейромедиатором, является фактором, способствующим выходу какого-то сложного метаболического комплекса из области синапса в область плазматических образований дендрита и сомы нервной клетки, прилежащих к постсинаптической мембране. С этой точки зрения, синапс не является образованием, созданным для формирования электрического потенциала, как это принимает господствующая точка зрения. В синапсе происходит трансформация пресинаптического возбуждения в специфические химические процессы в цитоплазме дендритов и сомы. На это указывает сложное строение постсинаптических мембран. Согласно схеме, предложенной П. К. Анохиным, в синапсе осуществляется следующая последовательность процессов: 1) приход по аксону возбуждения к синапсоме; 2) физико-химические превращения в синапсоме; 3) выход медиатора в синаптическую щель; 4) действие нейромедиатора на постсинаптический рецептор; 5) быстрое увеличение проницаемости мембраны, которое ведет к двум параллельным процессам; 6а) формирование ПД на мембране постсинаптического нейрона и суммация этих потенциалов на мембране; 6б) выброс в цитоплазму нейрона комплекса метаболитов и химические преобразования в плазме постсинаптического нейрона.

Все описанные выше концепции рассматривают нейрон как некоторый пассивный элемент, к которому по синаптическим входам приходят возбуждения и вызывают в нем определенные электрические или химические процессы. В настоящее время разрабатывается еще один аспект нейронной доктрины: нейрон рассматривается как *активный* элемент, способный регулировать эффективность своих синаптических входов за счет метаболизма, синтезировать и встраивать новые постсинаптические рецепторы для медиаторов, в которых он нуждается (Швырков, 1995). По мнению В. Б. Швыркова, генерация ПД на мембране нейрона определяется его метаболической активностью, в частности, потребностью в определенных метаболитах, например в нейромедиаторах.

Выводы

- Основным положением нейронной доктрины, сформулированной в конце XIX в., является положение о том, что нейроны не связаны друг с другом морфологически с помощью анастомозов (ретикулярная теория), а являются отдельными морфологическими и функциональными элементами ЦНС.
- Нейроны, в отличие от соматических клеток, имеют отростки (аксоны и дендриты), с помощью которых они устанавливают друг с другом синаптические связи.
- Мембрана нейрона и основные внутринейронные включения (ядро, митохондрии, строительные белки-рибосомы, шероховатый эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и др.) играют огромную роль в поддержании собственной активности нейрона и его взаимодействия с другими клетками.
- Существует несколько концепций, по-разному объясняющих механизмы генерации и роль потенциала покоя, медленных потенциалов (ВПСП, ТПСП) и потенциалов действия нейронов.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Анохин П. К. Системный анализ интегративной деятельности нейрона // П. К. Анохин Очерки по физиологии функциональных систем. М.: Медицина, 1975.
2. Мозг / Под ред. П. В. Симонова. М.: Мир, 1982.
3. Шеперд Г. Нейробиология. М.: Мир, 1987. Т. 1.
4. Швырков В. Б. Введение в объективную психологию (нейрональные основы психики). М.: Изд. ИП РАН, 1995.
5. Cotman C. W., McGaugh. Behavioral neuroscience. N. Y. Academic Press. 1980.
6. S. Ramon y Cajal. The structure and connexions of neurons // Nobel Lecture, December 12, 1906.

Дополнительная

1. Gudden, 1870 (цит. по Cotman C. W., McGaugh, 1980).
2. Waller, 1852 (цит. по Cotman C. W., McGaugh, 1980).
3. McCulloch и Pitts (цит. по Шеперд, 1987).
4. Palade and Palay, 1954 (цит. по Шеперд, 1987).
5. De Robertis, 1954 (цит. по Шеперд, 1987).
6. Rosenzweig M. R. Aspects of the search for neural mechanisms of memory // Annual Review of Psychology, 1996. V. 47. P. 1-32.
7. Singer S. J. & Nicolson The fluid mosaic model of the structure of cell membranes // Science, 1972. V. 175. P. 720-731.

ГЛАВА 2. АКТИВНЫЙ НЕЙРОН

В настоящей главе рассматривается функционирование нейрона с позиций получающего все большее распространение системного подхода и сравнение этого взгляда с традиционным. Активность нейрона с этих позиций представляется не как реакция на синаптический приток, обеспечивающая проведение возбуждения, а как средство изменения соотношения со средой, «действие», направленное в будущее, которое обуславливает устранение рассогласования между «потребностями» клетки и ее микросредой. Сам же нейрон предстает не как «проводник» или «сумматор», а как организм в организме, обеспечивающий свои «потребности» за счет метаболитов, поступающих от других элементов. Обсуждается сходство и различие между нейроном и одноклеточным организмом. Последнее состоит в том, что нейрон в отличие от одноклеточного обеспечивает «потребности» своего метаболизма, объединяясь с другими элементами организма в функциональную систему. Формирование подобных объединений выступает как метаболическая кооперация нейронов. Удовлетворение всего спектра метаболических «потребностей» клеток обеспечивается разнообразием реализуемых актов. Приводятся аргументы в пользу того, что нейрон активен не только в процессе жизнедеятельности, но и при программируемой смерти — апоптозе. В заключение демонстрируется, что новый подход к пониманию функционирования нейрона требует изменений способа анализа его активности.

2.1. Активность и реактивность

При всем многообразии теорий и подходов, используемых в нейронауке и психофизиологии, их можно условно разделить на две группы. В первой из групп в качестве основного методологического принципа, определяющего подход к исследованию закономерностей мозговой организации поведения, рассматривается реактивность (парадигма реактивности), во второй — активность (парадигма активности; подробно см. в: Александров, 2004; Швырков, 2006; Alexandrov, Järvilehto, 1993).

Использование принципа реактивности как объяснительного в научном исследовании базируется на идеях Рене Декарта. Декарт полагал, что организм может быть изучен, как машина, основной принцип

действия которой — рефлекс. С рефлекторных позиций события, лежащие в основе поведения, в общем представляются как линейная последовательность, начинающаяся с действия стимулов на рецепторные аппараты и заканчивающаяся ответным действием.

Как нам представляется (Александров, Крылов, 2005; Крылов, Александров, 2008), положения, выдвинутые Декартом, составляли и составляют «ядро исследовательской программы» (Лакатос, 1995), основанной на методологическом принципе реактивности. Суть этих положений состоит в том, что индивид в своем действии и состоянии объективно отражает предшествующий внешний сигнал. Применение данной концепции к какому-либо явлению означает, что его причины ищутся в прошлом и ввне данного явления, т.е. что оно порождается, вызывается другим внешним явлением, имевшим место в прошлом.

«Организм: как человек, так и животное — есть пассивная машина, действующая ... [в ответ на] средовое воздействие», — отмечает Z. Y. Куо. Обсуждая возможность целевой детерминации поведения, автор подчеркивает: «Каждая реакция обусловлена специфическим стимулом; она не может быть направляема или детерминирована ничем другим» (1928, pp. 420, 419). Данные утверждения, сделанные 80 лет назад (особенно второе), в целом находятся в хорошем соответствии как с декартовским пониманием, так и с сегодняшней редакцией принципа реактивности: несмотря на все модификации рефлекторной теории (см., например, Батуев, 1991; Судаков, 1997)), ее суть не меняется (Швырков, 2006; Анохин, 1980; Кругликов, 1982; Судаков, 1997; Александров, Крылов, 2005; и др.).

Вклад в развитие парадигмы активности, тесно связанной ныне с системным подходом и идеей целенаправленности поведения, был внесен еще Аристотелем, сформулировавшим представление о центральной роли среди детерминант поведения *causa finalis*. Принцип активности утверждает, что действие индивида направлено в будущее, имеет свою цель и ею обусловлено. Детерминация действия имеет внутреннюю по отношению к индивиду природу и связана с будущим событием. Был разработан целый ряд других существенно различающихся концепций, которые, однако, объединяло признание активности в качестве базового методологического принципа (П. К. Анохин, Н. А. Бернштейн, А. А. Ухтомский, J. Dewey, K. Koffka, E. C. Tolman, теория деятельности в отечественной психологии (Петренко, 1999) и мн.др.).

Принятие парадигмы активности затруднялось возникновением в ее рамках «временного парадокса», который можно сформулировать в виде следующего вопроса. Каким образом событие, которое наступит в будущем, может детерминировать текущую активность, быть ее причиной? П. К. Анохин (1975) решил этот «временной парадокс», используя понятие о модели будущего результата — цели, которая и выступает в качестве такой детерминанты, и разработав представление об акцепторе результатов действия, формируемом до реального появления результата и содержащем его прогнозируемые параметры.

Естественнонаучные и вообще экспериментальные методы сочетаются, как правило, с намерением дать каузальное объяснение изучаемым явлениям. Это объяснение традиционно связывается с парадигмой реактивности, в то время как парадигма активности, целенаправленности соотносится с телеологическим объяснением (см. Дружинин, 1993). Заслуга П. К. Анохина состоит не в том, что он использовал понятие цели в анализе поведения (целенаправленность поведения, как отмечалось выше, была очевидна уже для Аристотеля), а в том, что, введя представление об акцепторе результатов действия, он устранил противоречие между каузальным и телеологическим описанием поведения. Рассмотрение поведенческого акта и его нейронного обеспечения с этих позиций и как целенаправленных, и как причинных вполне правомерно (Швырков, 2006).

Содержание ряда теоретических и экспериментальных статей, появившихся в 90-х годах прошлого и в нынешнем веке в научной периодике, в том числе в международных журналах с высоким импакт-фактором, позволяет сделать следующие утверждения. Очевидно выраженное движение нейронауки и психофизиологии от картезианского «стимульного» к «целевому» и «холистическому» детерминизму, от реактивности и редукционизма в понимании механизмов поведения к идее активности и системности (Alexandrov, Jarvilehto, 1993; Bar, 2007; Ellis, 1999; Engel et al., 2001; Fisher, Bidell, 2006; Freeman, 1997; Jordan, 1998; Koch, Laurent, 1999; NSF Task Force...; Schall, 2001; Strange, 2005; Thompson, Varela, 2001; de Waal, 1996; Webb, 2004; Wilson, 1998; Woese, 2004; и др.). Одной из иллюстраций этого движения может быть, например, то, что в журналах по нейронаукам и молекулярной биологии число статей, в которых используется термин «системный», возросло за указанный период по сравнению с непосредственно предшествующим периодом в сотни раз.

2.2. Нейрон, отвечая на стимул, проводит возбуждение

Как мы уже отмечали, с позиций парадигмы реактивности поведение индивида представляет собой реакцию на стимул. В основе реакции лежит проведение возбуждения по рефлекторной дуге: от рецепторов через центральные структуры к исполнительным органам. Нейрон при этом оказывается элементом, входящим в рефлекторную дугу, а его функция — обеспечением проведения возбуждения. Тогда вполне логично рассмотреть детерминацию активности этого элемента следующим образом: «...ответ на стимул, подействовавший на некоторую часть ее (нервной клетки — Ю. А.) поверхности, может распространяться дальше по клетке и действовать как стимул на другие нервные клетки...» (Бринк, 1960, с.93). В рамках парадигмы реактивности рассмотрение нейрона методологически последовательно: нейрон, как и индивид, реагирует на стимулы. В качестве стимула выступает импульсация, которую нейрон получает от других клеток, в качестве реакции — следующая за синаптическим притоком импульсация данного нейрона (рис. 2.1).

Подобное понимание нейрона — важный составной компонент нейронной доктрины. Поэтому данная доктрина справедливо рассматривается как «практически удобный инструмент ... редукционистского подхода» к исследованию функционирования нервной системы. Удобство связано, в частности, с тем, что, поскольку характерный для парадигмы реактивности (Lewontin, Levins, 1980) «редукционистский подход включает также и представление о функциях, локализованных в определенных структурах мозга» (Guillegu, 2007, pp. 415, 416), постольку функционирование «проводящего» нейрона при рассмотрении внутрискелетурных его связей может быть использовано для понимания реализации собственной функции структуры (например, сенсорной), а при рассмотрении длинных межструктурных связей — для понимания объединения этих функций в целостный механизм поведения (например, связывание сенсорных и моторных структур для обеспечения проведения возбуждения по афферентной и эфферентной частям рефлекторной дуги).

Это удобство, а также широчайшее принятие парадигмы реактивности и ее методологическая последовательность (и организм, и нейрон реагируют на стимул) объясняет почти безальтернативное использование анализируемого понимания детерминации активности нейрона. Однако Guillegu R. W. справедливо подчеркивает, что, будучи удобным редукционистским инструментом, нейронная доктрина и упомянутое выше рассмотрение функционирования нейрона в ее рамках

«не приближают нас к пониманию того, что такое нейроны в действительности» (2007, р. 411), а Strange К. в статье, озаглавленной «Конец «наивного редукционизма ...», утверждает следующее: «Физиология как академическая дисциплина подвергается реальному риску быть отодвинутой на задний план организационно и административно развивающейся системной биологией. Чтобы избежать этой участи, физиологические учреждения и физиологи должны полностью принять основные положения системной биологии» (2005, р. 972).

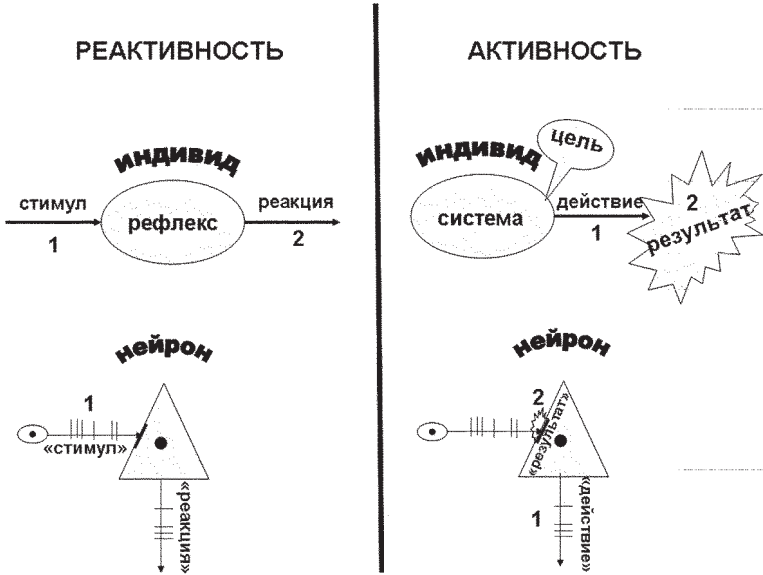


Рис. 2.1. Индивид и нейрон в парадигмах активности и реактивности. Цифрами на схеме обозначена последовательность событий. В соответствии с парадигмой реактивности за стимулом (1) следует реакция (2) — поведенческая у индивида, импульсная у нейрона. В последнем случае в качестве стимула рассматривается импульсация пресинаптического нейрона, аксон которого (стрелка с надписью «стимул») контактирует с реагирующим, постсинаптическим нейроном. Реакция представляет собой импульсные разряды, распространяющиеся по аксону постсинаптического нейрона (стрелка с надписью «реакция»). В соответствии с парадигмой активности действие (1) (поведенческое — у индивида, импульсация — у нейрона) завершается достижением результата и его оценкой (2). В схему включается модель будущего результата: для человека, например, контакт с объектом-целью, для нейрона — получение соответствующих метаболитов.

Имея в виду только что сказанное, отметим все же, что методологическая последовательность, характеризующая, как уже было отмечено, парадигму реактивности, отсутствовала в рамках парадигмы активности. Как правило, анализ «нейронных механизмов» активного целенаправленного поведения приводил авторов к тому, что мы назвали «уровневой эклектикой»¹ (Александров, 2004): представлению о том, что индивид осуществляет целенаправленное поведение, а его отдельный элемент — нейрон (обеспечивающий это поведение) — реагирует на приходящее к нему возбуждение — стимул (см. также, например, (Александров, 1995) об эклектичном представлении, развитом в теории деятельности, в соответствии с которым целенаправленное действие обеспечивается «рефлекторными психофизиологическими реализаторами»). Важнейшей задачей в теории функциональных систем было устранение этой эклектичности.

Подход к нейрону как к проводнику возбуждения встречал возражения уже давно, например, со стороны Дж. Э. Когхилла, который, однако, не мог в отсутствие целостной и последовательной теории, вписывающейся в парадигму активности, дать решение, адекватное сформулированной задаче. Его нейрон реагирует «на окружающую среду так же, как живой организм» (1934, с. 56). Решающий шаг в направлении решения этой задачи был сделан П. К. Анохиным, который в своей работе (1974) подверг аргументированной критике общепринятую, как он ее назвал, «проведенческую концепцию» нейрона и предложил вместо нее системную концепцию интегративной деятельности нейрона.

Он подчеркивал, что вне зависимости от конкретных, усложняющихся с развитием науки представлений о функционировании нейрона в традиционном рассмотрении центральной оставалась идея об электрической суммации потенциалов на мембране нейрона. В соответствии с ней предполагалось, что возбуждающие и тормозные постсинаптические потенциалы, возникающие за счет изменения ионных градиентов на мембране постсинаптического («получающего») нейрона под действием пресинаптической импульсации, суммируясь, действуют на генераторный пункт нейрона, продуцирующий распространяющиеся потенциалы действия — импульсы.

П. К. Анохин назвал парадоксальным перенос на нейрон представлений, возникших при изучении функционирования нервного волокна

¹ Эклектика — смешение разнородных, зачастую противоположных положений и принципов, замена одних логических оснований другими.

и заставляющих рассматривать проведение возбуждения как главную деятельность нервной клетки. Если задача состоит лишь в том, чтобы передать возбуждение от одного нейрона к другому, то не ясно, для чего между входным и выходным импульсами «вставлены» сложные промежуточные этапы: выделение медиатора, его воздействие на субсинаптическую мембрану и химические превращения на ней. «Неужели для того, чтобы, начав с электрического потенциала терминали, сформировать в конце концов тот же спайковый потенциал, весьма сходный по своим физическим параметрам с потенциалом, пришедшим по аксонной терминали?» — спрашивал он (Анохин, 1975, с. 368).

2.3. Нейрон, активируясь, достигает «результат»

Упомянутые ранее этапы перехода от пре- к постсинаптической активности приобретают смысл в том случае, если принять, что процесс, обеспечивающий переход от пре- к постсинаптическим образованиям, продолжается в непрерывную цепь химических процессов внутри нейрона и, главное, что *все межклеточные контакты служат обмену метаболическими субстратами между контактирующими клеточными образованиями*. Переход от «проведенческой концепции» к рассмотрению нейрона как «организма», получающего необходимые ему метаболиты из окружающей «микросреды», и был тем принципиально важным, сделанным П. К. Анохиным шагом, который предопределил последующую разработку проблемы в направлении ее системного решения.

Необходимость дальнейшей разработки определялась тем, что, хотя в концепции интегративной деятельности нейрона и подчеркивалась роль межклеточных контактов в обмене метаболическими субстратами между клетками, а не в проведении возбуждения, импульсация нейрона в ней все еще рассматривалась как реакция, следующая в ответ на стимул — импульсацию пресинаптических нейронов. То есть в рамках этой концепции последовательность событий в принципе оставалась той же, что и в парадигме реактивности. В обоих случаях процесс начинался приходом возбуждения к нейрону (стимул) и заканчивался генерацией этим нейроном потенциала действия (реакция). Разница же, пусть и весьма значимая, состояла в том, какими процессами заполнялся интервал между действием медиатора на субсинаптическую мембрану нейрона и генерацией потенциала: химическими преобразованиями внутри нейрона в первом случае и электрической суммацией во втором.

Устранение эклектики и приведение представления о детерминации активности нейрона в соответствие с требованиями системной парадигмы было достигнуто отказом от рассмотрения активности нейронов как реакции на синаптический приток и принятием положения о том, что нейрон, как и любая живая клетка, реализует генетическую программу, нуждаясь при этом в метаболитах, поступающих к нему от других клеток (Швырков, 2006). В связи с этим последовательность событий в деятельности нейрона становится аналогичной той, которая характеризует активный целенаправленный организм, а его импульсация — аналогичной действию индивида (см. рис. 2.1).

Импульсация нейрона, как и поведение индивида, является не реакцией на синаптический приток, но активностью, направленной в будущее. Она выступает как средство изменения соотношения со средой, «действием», которое обуславливает устранение несоответствия между его «потребностями» и средой, в частности за счет изменений кровотока, метаболического притока от глиальных клеток и активности других нейронов. Эти изменения, если они соответствуют текущим метаболическим «потребностям» нейрона, приводят к достижению им «результата»: получению набора метаболитов, соединяющихся с его рецепторами (на мембране или внутри клетки; см. далее), и прекращению его импульсной активности.

Предполагается, что несоответствие, рассогласование между «потребностями», определяемыми генетически, и реально поступающими метаболитами может иметь место как при генетически обусловленных изменениях метаболизма клетки, так и при изменении притока метаболитов от других клеток. Таким образом, нейрон — не «кодирующий элемент», «передатчик информации», «проводник» или «сумматор», а организм в организме, обеспечивающий свои «потребности» за счет метаболитов, поступающих от других элементов.

Представляется, что данное заключение в общем находится в согласии с теми положениями селективной теории нейронных групп, сформулированной лауреатом Нобелевской премии Дж. Едельманом, из которых следует, что «каждый нейрон является сложной метаболической контролируемой с помощью обратных связей единицей, которая стремится регулировать эффективность своих синапсов в условиях возмущений. Активность нейрона является не передачей какой-либо семантической информации, а, скорее, только механизмом модификации заданного значения метаболизма клеток» (Edelman, Finkel, 1984, pp. 686, 687). Согласие с приведенными формулировками было бы еще боль-

шим, если бы в физиологической литературе изменение эффективности (силы) синапсов не ассоциировалось прочно с усилением проведения в рефлекторных дугах и сетях при формировании памяти (см. также об усилении синапсов как основе формирования знаний в коннекционизме; Smolensky, 1988; критику коннекционизма см. в Fodor, Pylyshyn, 1988).

Попробуем дополнительно пояснить представление об активности нейрона как следствии рассогласования и способе его устранения, сопоставив, каким образом с позиций этого представления и с позиций традиционных может быть рассмотрен какой-либо конкретный феномен. Так, феномен четкой связи активации нейрона с электрической стимуляцией соседней структуры мозга в рамках традиционной парадигмы реактивности с очевидностью свидетельствует в пользу рассмотрения этой активации как реакции на детерминированную электрическими стимулами пресинаптическую стимуляцию. В рамках же парадигмы активности — как доказательство обусловленности активации нейрона рассогласованием между «потребностями» нейрона и его микросредой, модифицированной электрической стимуляцией через искусственное грубое нарушение (возмущение) паттерна метаболического притока к нейрону, имеющего место в норме, т.е. в отсутствие стимуляции.

Такое различие трактовок одного и того же простого феномена не будет удивлять, если принять во внимание, что эмпирическое явление превращается в факт, будучи интерпретированным в терминах теории (Полани, 1998; Поппер, 1983). Поэтому в рамках разных парадигм, разных теорий *одно и то же эмпирическое явление превращается в разные факты*. Отсюда следует необходимость и полезность сопоставления результатов рассмотрения феноменологии нейронной активности с позиций традиционной парадигмы реактивности и с позиций парадигмы активности.

Представление о клетке как об организме в организме не новая идея. В середине XIX века Рудольф Вирхов (1859) отмечал, что каждая клетка содержит все необходимое для жизни и является самостоятельной жизнью. В 90-х годах XIX века М. Ферворн рассматривал отдельную клетку многоклеточных «как ... элементарный организм» (1897, с. 540), а несколько позже один из наиболее ярких и глубоких исследователей — физиологов, лауреат нобелевской премии Ч. Шеррингтон писал: «Утверждение, что из клеток, составляющих нас, каждая является индивидуальной эгоцентричной жизнью — не просто фраза. Это не просто удобный способ описания. Клетка как компонент тела — не только

визуально ограниченный модуль, это отдельная жизнь, сосредоточенная на себе. Она живет собственной жизнью... Клетка — это отдельная жизнь, и наша жизнь, которая, в свою очередь, является отдельной жизнью, всецело состоит из жизней-клеток.» (1951, с. 73). Что действительно принципиально нового добавлено в результате системного анализа детерминации активности нейрона к указанному положению — это приведение данного общетеоретического представления о клетке, в частности, о нейроне, в соответствие с представлением о детерминации ее активности.

Как только что было отмечено, активность нейрона возникает при несоответствии между «потребностями», в частности, при несоответствии реально имеющегося притока метаболитов «потребному» в данный момент. Подобное несоответствие может возникать в том числе и в отсутствие медиаторного притока.

С позиций традиционных представлений о нейроне, отвечающем реакциями на синаптический приток, его «обычная» активность представляется «экзогенной», вызванной внешним стимулом — притоком. В той же ситуации, когда активность имеет, так сказать, «внутреннее», а не «внешнее» происхождение, например, в отсутствие «входной» импульсации, говорят об «эндогенной», «пейсмекерной» активности (см., например, Forti et al., 2006; Pape et al., 1998, а также главу Т. Н. Греченко в этой книге). Ясно, что с излагаемых здесь позиций эти виды активности детерминированы метаболическими «потребностями» нейрона, и в этом смысле можно сказать, что они имеют в значительной степени сходный генез и возникают при рассогласовании между состоянием «микросреды» нейрона и этими «потребностями», что может иметь место как при появлении несоответствующего «потребностям» притока (например, при раздражении электрическим током клеток мозга, связанных с данным нейроном; см. выше), так и в отсутствие синаптического притока к нейрону, когда он необходим.

Представления о нейроне как об электрическом (электрохимическом) устройстве (или «микросхеме» — см. ниже), передающем сигнал, возбуждение, информацию и т.п. по дуге, цепи и т.п., могут существовать без учета представлений об активности нейрона, возникающей вне «входных воздействий». Конечно, сам феномен наличия такой активности не противоречит парадигме реактивности. Но можно все же полагать, что для схем, описывающих механизм поведения как реакцию на внешний стимул, данный учет был бы часто неудобным усложнением, заставляющим рассматривать дополнительные переменные. Во всяком случае оказывается, что возникает необходимость в

принятии специальных мер для того, чтобы скорректировать содержание программ изучения нейробиологии, игнорирующих эндогенную активность. Означается, что у студентов формируется неадекватное понимание нейрона как «микросхемы, которая перерабатывает поступающую информацию и пересылает ее дальше, чтобы повлиять на другие микросхемы, с которыми она соединена» (Milburn, 1990). Заметим, что борьба с подобными описаниями затруднительна, потому что они хорошо соответствуют традиционной парадигме реактивности. «Однако реальности, — продолжает автор анализа программ, — соответствует следующее положение: многие, если не все, нейроны часто продуцируют эндогенную активность, а не просто отвечают на команды» (Milburn, 1990, р. 508). Реальности — да, а простым рефлекторным схемам (в которых рисуются пути от рецепторов, активированных внешних стимулом, к сенсорным областям, а от них — к моторным структурам и эффекторам) — в меньшей степени. В рамках же представления о системной детерминации активности нейронов эндогенная их активность оказывается не «мешающим», усложняющим имеющиеся схемы феноменом, а совершенно ординарной, «нормальной» активностью, возникающей в отсутствие потребного притока, в отсутствие необходимых нейрону метаболитов в его «микросреде».

2.4. «Действие» нейрона

«Действие» нейрона, его импульсная активность не только влияет на микросреду, но изменяет и сам импульсирующий нейрон. Здесь опять можно провести аналогию с индивидом. Когда человек протягивает руку к яблоку, он не только приближает ее к объекту-цели, но и готовит себя к контакту с яблоком: изменяет позу, суставные углы рабочей конечности в зависимости от положения яблока, его пальцы конфигурируются в соответствии с размером яблока, рецепторы претерпевают модифицирующие их состояние эфферентные влияния, связанные с предвидением будущего контакта тела с объектом-целью и т. д.

Что же касается нейрона, уже давно было известно, что «следовые», постспайковые процессы (такие, как изменение поляризации, ионной проницаемости) играют существенную роль в регуляции чувствительности нейрона к последующему притоку (см., например, Шаповалов, 1966). Позже как на препаратах, так и на бодрствующих животных было показано также, что потенциал действия, генерируемый нейроном, распространяется не только в «обычном» направлении — по аксону

к другим клеткам, но и в обратном направлении — к дендритам данного нейрона (феномен «обратного распространения», «backpropagation») (Buzsaki, Kandel, 1998; Fregnac, 1998). При этом его чувствительность к синаптическому притоку существенно модифицируется. При сочетании эффектов «обратного распространения» с пресинаптической импульсацией возникают изменения в дистальных дендритах, а также и в теле нейрона. Обнаружено также, что интенсивность поглощения нейроном меченных изотопами аминокислот значительно изменяется в микроинтервалах времени, приуроченных к моменту генерации спайка. Причем наиболее выраженные изменения, связанные с генерацией спайка, имеют место в постспайковом периоде: именно в этом временном интервале интенсивность трансмембранного переноса аминокислот достигает максимума (Бобровников, 1998).

Имея в виду только что изложенное, активность нейрона, как и поведение индивида, можно рассмотреть как со стороны влияния на окружающую среду (микросреду), так и со стороны модификации активного агента, модификации, соответствующей ожидаемым параметрам эффекта этих влияний и являющейся неперменной характеристикой активности. Тогда модификация нейрона вследствие его собственной активности может быть рассмотрена как показатель подготовки нейрона к будущему притоку, связанному с его активностью. Иначе говоря, эти данные свидетельствуют в пользу того, что, давая спайки, нейрон не только обеспечивает необходимый ему метаболический приток, но и подготавливается к его «утилизации».

Результат поведения индивида рассматривается как новое его соотношение со средой (Анохин, 1975; Швырков, 2006). Следовательно, как и в случае с целостным индивидом, на уровне отдельной клетки — результат, на достижение которого направлена активность, не новая среда и не новое состояние агента, а их новое соотношение.

2.5. Необходимые компоненты системного понимания детерминации активности нейрона. Гедонистический нейрон

Следует подчеркнуть, что для последовательно системного понимания детерминации активности нейрона существенны два компонента: признание 1) направленности активности нейрона в будущее и 2) ее обусловленности метаболическими «потребностями» нейрона. То, что только первого из них, пусть и принципиального, недостаточно, мы покажем на примере оригинальной концепции «гедонистического ней-

рона», разработанной А. Г. Клопфом (Klopf, 1982). В данной концепции отсутствует второй компонент.

Утверждая, что целенаправленный мозг состоит из целенаправленных нейронов, А. Г. Клопф отвечает на вопрос о том, в чем же состоит цель нейрона и как она достигается в соответствии со следующей логикой. 1) Аристотель рассматривал получение удовольствия как главную цель поведения. Следовательно, организм гедонистичен. 2) Нейрон есть организм. 3) Следовательно, нейрон гедонистичен. «Удовольствие» для нейрона — возбуждение, а «неудовольствие» — торможение. Активация нейрона — «действие», обеспечивающее получение им возбуждения. Нейрон является гетеростатом, т.е. системой, направленной на максимизацию «удовольствия», т.е. возбуждения.

Таким образом, отсутствие второго из двух необходимых компонентов ведет к необходимости предположить наличие у нейрона довольно странных и экзотически аргументированных «потребностей». Концепция «гедонистического нейрона» становится особенно сомнительной, если принять во внимание достаточно аргументированную теорию «токсического перевозбуждения» (excitotoxic), в рамках которой длительное возбуждение нейронов рассматривается как причина их гибели. Иначе говоря, нейроны в рассматриваемой концепции стремятся к своей гибели.

В то же время наиболее часто у авторов отсутствует первый компонент. При анализе нейронного обеспечения поведения его отсутствие ведет к рассмотрению сложных метаболических превращений внутри нейрона, главным образом как фактора, обеспечивающего проведение возбуждения и пластичность (модификацию проведения при разных видах научения). При этом сложнейшие механизмы изменения «белкового фенотипа» оказываются направленными, например, на изменение синаптической эффективности.

2.6. Метаболические «потребности» и объединение нейронов в систему как способ их удовлетворения

Охарактеризуем очень кратко некоторые существенные «потребности» нейрона. Они определяются необходимостью синтеза новых молекул, в том числе белков, расходуемых в процессе жизнедеятельности («типичная» белковая молекула разрушается в среднем через два дня после того, как она была синтезирована) или обеспечивающих структурные перестройки нейрона, которые имеют место, например, при научении. Для этого в том случае, если в клетке нет соответствующей

информационной РНК, направляющей синтез белка в цитоплазме, экспрессируются (становятся активными, «выраженными») гены, среди которых выделяют гены «домашнего хозяйства» (универсальные «потребности» клеток), гены «роскоши» (специфические «потребности» клетки), «ранние» и «поздние» гены, экспрессируемые на последовательных стадиях формирования памяти, и т.д. Как предполагается, именно усложнение процессов регуляции экспрессии генов, а не их количество определяет эволюционное усложнение живых систем (см. в Албертс и др. 1986, Анохин 1996).

Различие паттернов экспрессии генов определяют различие специализации имеющих один геном клеток организма и, следовательно, различия их метаболических «потребностей». Особенно велики эти различия для клеток мозга, в которых экспрессируются десятки тысяч уникальных для мозга генов. Считается, что метаболическая гетерогенность нейронов, обусловленная генетически и зависящая от условий индивидуального развития (т.е. являющаяся результатом взаимодействия фило- и онтогенетической памяти), лежит в основе разнообразия функциональной специализации нейронов и определяет специфику их участия в обеспечении поведения (см., например, Александров, 1989; Швырков, 2006; Шерстнев и др., 1987).

Учитывая сказанное выше, можно согласиться с J. T. Bonner (1988), который отмечает отсутствие корреляции между усложнением организмов в филогенезе и изменением величины их генома и связывает это усложнение с нарастанием у организмов числа типов клеток разной специализации. Тогда появление и развитие нервной системы в филогенезе можно рассмотреть как «революцию» в эволюции.

Это не преувеличение потому, что с появлением и развитием нервной системы 1) принципиально возросло число существенно различающихся клеточных специализаций. Разнообразии клеточных специализаций в развитой нервной системе огромно. Считается даже, что нервная система состоит из нейронов, обладающих своеобразной «индивидуальностью» (см. в Анохин 1975; Кэндел 1980), что, по-видимому, «почти каждый нейрон уникален» (Ramus, 2006, p. 255). Это разнообразие формируется в онтогенезе на базе как минимум 2500–5000 типов нейронов (Bota, Swanson, 2007). Подчеркивается в то же время, что в сформированной нервной системе млекопитающих число типов нейронов по некоторым данным приближается к 10^4 ; это количество того же порядка, что и число генов в геноме млекопитающих: $2-4 \times 10^4$ (данное соответствие, как полагают, делает маловероятной заманчивую возмож-

ность установить соотношение «данный ген — определенный нейронный тип»; Nelson et al., 2008). 2) Поскольку специализация нейронов устанавливается в отношении элементов субъективного опыта — систем, формируемых в индивидуальном развитии, в том числе — в отношении индивидуально специфических систем (Александров, 1989, 2004; Швырков, 2006), постольку *число различающихся наборов клеточных специализаций стало равно числу индивидов.*

Спектр принципиально возможных типов специализации зависит от того, к какому виду принадлежит данный индивид, и задается *преспециализацией* нейронов (первичный ассортимент по Edelman (1987), формирующихся в процессе морфогенеза на ранних этапах онтогенеза. Одни группы нейронов в составе первичного ассортимента определяют возможность сформировать конкретные видоспецифические поведенческие акты (т. е. формирующиеся у всех особей данного вида, но, однако, не представляющие собой «готовые кирпичики», а обладающие индивидуальными особенностями). Другие группы нейронов делают индивида способным к реализации целых классов соотношений со средой — «потенциальная психика», по А. Н. Северцову (1922). Эти классы представляют собой детерминированные особенностями первичного ассортимента диапазоны разных поведенческих возможностей, а не комплекты конкретных актов. Какой именно акт в границах возможностей данного класса будет сформирован в процессе научения индивидом, определяется обстоятельствами его неповторимого индивидуального развития. Таким образом, набор специализаций нейронов (вторичный ассортимент), сформированных при обучении конкретным актам поведения, у каждого индивида уникален. Становление специализаций нейронов включает их разнообразные морфологические изменения (Baily, Kandel, 1993) и может быть рассмотрено как следующий шаг дифференциации клеток, начатой в раннем онтогенезе.

Следовательно, в рамках рассмотрения индивидуального развития как формирования все новых нейронных специализаций *онтогенез может быть оценен как* продолжение в течение жизни индивида филогенетической линии развития, состоящей в нарастании числа типов клеточной специализации, т.е. как *продолжение филогенеза.*

Роль большинства химических соединений, поступающих в «микросреду» клетки, сводится к изменению свойств и скорости синтеза имеющихся в ней белков или к инициации синтеза новых белков. На метаболизм нейрона влияют и нейромедиаторы, выделяемые из терминалей контактирующих с ним нейронов. Соединяясь со «своим» рецеп-

тором, медиатор не только изменяет проницаемость ионных каналов, но и оказывает влияние на внутриклеточные процессы, выступая в качестве индуктора внутриклеточных метаболических превращений (см., например, Третьяк, Архипова, 1992). Однако и изменение проницаемости ионных каналов, обычно связываемое лишь с модуляцией электрического потенциала нейрона, в свою очередь оказывает существенное влияние на метаболизм клетки: трансмембранный транспорт метаболитов (например, глюкозы с помощью транспорта ионов Na^+), поддержание уровня рН внутри клетки (Rose, 1997). Интересно, что у бактерий обмен со средой и метаболическая функция осуществляется за счет трансмембранного транспорта протонов. У бактерий же, которые живут в среде с высокой концентрацией соли, роль протонов могут выполнять катионы натрия (Громов, 1997).

Рассмотрение нейрона в качестве организма соответствует представлению о значительном сходстве между закономерностями обеспечения жизнедеятельности нейрона и одноклеточного организма (Koshland, 1983). Однако между ними существует и серьезное различие. Одноклеточный организм может обеспечить свои метаболические потребности за счет собственной целенаправленной активности (Громов, 1997), например, передвигаясь в область повышенной концентрации питательных веществ. Н.А. Берштейн, один из ярчайших представителей парадигмы активности, писал: «Все бесчисленные формы активности и экстраполяции предстоящего позволяют нам теперь говорить о целенаправленности, целеустремленности и т.д. любого организма, начиная, может быть, уже с протоцистов» (1990, с. 439).

Нейрон же в отличие от одноклеточного обеспечивает «потребности» своего метаболизма, объединяясь с другими элементами организма в функциональную систему. Как и с кем объединяться для удовлетворения своих потребностей, нейроны «выясняют» в процессе научения. Собственно, процесс научения на нейронном уровне может быть рассмотрен в этом аспекте как создание групп клеток, которые, работая вместе в соответствующих условиях, могут обеспечить свои «потребности», а также, возможно, и некоторые из «потребностей» клеток, с которыми они связаны, но которые молчат в данном поведении. Таким образом, каждый следующий процесс научения выступает как формирование нового, дополнительного способа «метаболической кооперации» (Subak-Sharpe et al., 1969) клеток.

Взаимодействие, совместная активность множества нейронов (и других клеток организма) обеспечивает достижение результата пове-

дения — нового соотношения целостного индивида и среды. Однако нейрон ничего не «знает» об этом результате, например, о нажатии клавиши компьютера. «Изнутри», на уровне отдельных нейронов, достижение результата выступает как удовлетворение метаболических «потребностей» нейронов и феноменологически проявляется в прекращении их активности. Эта активность и есть нейронные основы поведения, направленного на достижение данного результата.

Как известно, один из основных признаков результата, выявляемых при «внешнем» анализе поведения, следующий: он прекращает поведение, направленное на его достижение (Швырков, 2006). Таким же свойством, как мы только что отметили, обладает «результат», достигаемый отдельными нейронами: он прекращает их активность. Интересно, что острое введение алкоголя приводит к эффекту, сходному с достижением результата: активность многих нейронов прекращается. С этим «результатоподобным», «результатозамещающим» действием алкоголя (Alexandrov et al., 1990, 1993) может быть связано его известное эйфорическое и «подкрепляющее» действие.

2.7. Множественность нейротрансмиттеров

Вернемся еще раз к традиционному пониманию детерминации активности нейрона. В рамках этого понимания закономерно возникает вопрос, четко сформулированный лауреатом Нобелевской премии Кэнделом (E. Kandel): «Почему имеются разные нейротрансмиттеры, если лишь одного достаточно для того, чтобы опосредовать передачу всех электрических сигналов?» (см. Сахаров, 1990). С позиций излагаемых здесь представлений о системной детерминации активности нейронов нейротрансмиттер больше не рассматривается как стимул, действующий на нейрон (или отдельный его локус), а нейрон как передатчик электрических сигналов. Нейротрансмиттеры являются метаболитами, обеспечивающими удовлетворение «потребностей» клетки. Да и сам термин «нейротрансмиттер» парадигмален, задан представлением о нейроне как передатчике возбуждения.

Если рассматривать его не как передатчик возбуждения с нейрона на нейрон, а как метаболит, проблема множественности не возникает. Многообразие и сложность «потребностей» нейрона таковы, что разнообразие нейротрансмиттеров не кажется удивительным. Проблема же «множественности нейротрансмиттеров», т.е. множественности «передатчиков» гомогенных электрических сигналов, превращается при этом в проблему определения специфики метаболических паттернов, свя-

занных с обеспечением тех или иных «потребностей», и проблему модификации паттернов при формировании специализации нейронов в процессе научения.

Различные «потребности» нейрона могут удовлетворяться за счет различных паттернов. В долгосрочной перспективе паттерны, поступающие к данному нейрону, могут быть изменены за счет реорганизации морфологических связей нейрона, имеющей место при научении (см. выше). В краткосрочной — за счет перестройки набора активных нейронов и свойств их активаций, имеющей место при переходе от реализации одного поведения к реализации другого (Александров, 1989, 2004а; Швырков, 2006; Kouyama et al., 2001; Quian Quiroga et al., 2008; Matsuzaka et al., 2007; Ranck, 1973; и др.). Поскольку наборы меняются, то меняется и метаболический приток к данному нейрону. Изменение же свойств активации (например, ее частоты) у той пресинаптической клетки, которая продолжает активироваться при переходе от одного поведения к другому, может также обусловить изменение эффектов, оказываемых на процессы, происходящие в постсинаптическом нейроне.

В аналитических экспериментах (исследование срезов мозга) обнаружено, что у дофаминовых нейронов воздействие глутамата (рассматриваемого в качестве возбуждающего нейротрансмиттера) на одни и те же рецепторы постсинаптического нейрона может обусловить не только возбуждение, но и торможение в зависимости от того, какова частота «входной» импульсации (Fiorillo, Williams, 1998). Ранее, в экспериментах на свободно подвижных животных, было обнаружено, что при подведении к данному нейрону глутамата (методом ионофореза) можно получить кардинально различное действие на активность данного нейрона в зависимости от того, в каком поведенческом акте эта активность регистрируется (Безднежных, 1986, 2004). Известно также, что в зависимости от паттерна пресинаптической импульсации в синапсе могут высвобождаться различные активные вещества (см. обзор Виноградова, 2000).

Таким образом, удовлетворение всего спектра метаболических «потребностей» обеспечивается разнообразием реализуемых актов.

2.8. Нейрон активен не только тогда, когда живет, но и тогда, когда умирает

Цель этого раздела состоит в том, чтобы подчеркнуть, что принцип активности распространяется на весь период и на все аспекты существования нейрона, включая и процессы, связанные с реализацией альтернативы: измениться или умереть (апоптоз). Подобная альтернатива

возникает как при развитии патологических процессов, так и в норме при научении (Александров, 2004а). Данная позиция находится в соответствии с точкой зрения о том, что каждый из этапов апоптотической элиминации клетки является активным (Raoul et al., 2000) и что, по существу, элиминация является самоубийством, совершаемым клеткой (Leist, Jaattela, 2001; Yuan, Yankner, 2000).

Можно добавить, что этот суицид альтруистичен. В том смысле, что клетка включает программу самоэлиминации, чтобы таким образом устранить иным путем неустранимое метаболическое противоречие и обеспечить успешную адаптацию индивида к изменившимся условиям, а значит, обеспечить выживание других клеток, принадлежащих к тому же клону.

Ранее уже приводились аргументы в пользу существования «альтруистичного клеточного суицида» в нервной системе: при инфицировании нейротропным вирусом. Альтруистичный суицид в подобном случае рассматривается как стратегия мультিকлеточного организма, ограничивающего размножение вируса путем самоуничтожения инфицированных клеток (Allsopp, Fazakerley, 2000).

У альтруизма клеток многоклеточного организма имеются эволюционные предпосылки. Описана альтруистическая гибель у одноклеточных (амебы *Dictyostelium discoideum*), которые приносят себя в жертву другим клеткам своего клона, обеспечивая за счет формирования из тел гибнущих клеток нежизнеспособного стержня существование временно формирующегося многоклеточного образования. Остальные (около 80%) клеток превращаются в жизнеспособные споры, составляющие это образование (Strassmann et al., 2000).

2.9. Активность и реактивность нейрона изучают с помощью разных методов

Парадигма в науке характеризуется не только теориями и аксиомами, но и специфическими методами исследования, отличными от методов, применяемых в других парадигмах (Кун, 1975). Поэтому не удивительно, что формирование системного подхода к пониманию детерминации активности нейронов заставило применить специальный метод анализа импульсной активности: построение «предрезультатных» гистограмм. Традиционные «постстимульные» гистограммы, являясь усреднением «вперед» по отношению к точке отсчета, выявляют закономерные изменения активности нейрона после предъявления стимула (рис. 2.2). Предрезультатные гистограммы, являясь усреднением «на-

зад», позволяют обнаружить закономерное увеличение частоты импульсной активности при реализации поведения, направленного на получение конкретного результата, и уменьшение частоты или прекращение этой активности при его достижении (рис. 2.3).

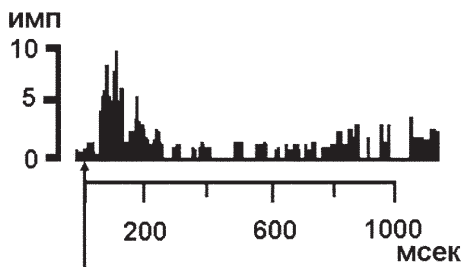


Рис. 2.2. Постстимульная гистограмма активности нейрона зрительной коры кролика. Нейрон активируется после предъявления вспышки света. Момент предъявления вспышки, от которого производится построение гистограммы, обозначен стрелкой. Ширина канала — 10 мсек. По оси ординат — число импульсов в канале гистограммы, по оси абсцисс — время в миллисекундах. $n=22$.

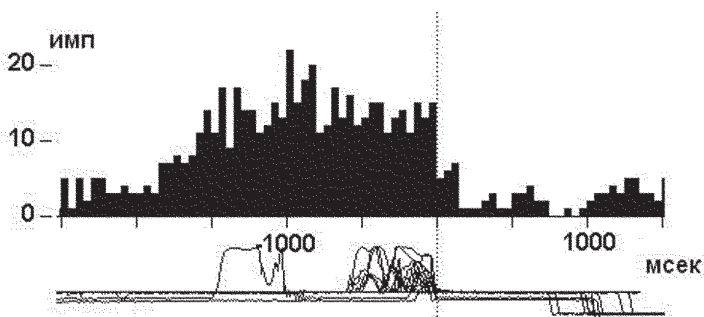


Рис. 2.3. Предрезультатная гистограмма активности нейрона цингулярной коры кролика. Нейрон активируется в инструментальном поведении при подходе животного к педали или (при смене педали на кольцо) при подходе к кольцу, затем при нажатии на педаль или потягивании кольца, которые запускают подачу кормушки с порцией пищи. Активация продолжается до завершения нажатия или потягивания. Сверху: гистограмма построена от момента завершения нажатия на педаль и потягивания кольца. Снизу: актограммы суммированных реализаций поведения; отклонения вверх — нажатие на педаль или потягивание кольца; вниз — опускание морды в кормушку. Ширина канала — 50 мсек. По оси ординат — число импульсов в канале гистограммы, по оси абсцисс — время в миллисекундах. $n=14$.

В литературе имеются данные, которые позволяют связать частоту «предрезультатной» активности с величиной потребности, с одной стороны, и с появлением поведения, направленного на удовлетворение этой потребности, с другой. Так, например, показано, что у зависимых от кокаина животных, обученных нажимать на педаль для введения себе кокаина (через канюлю, вживленную в яремную вену), частота активности нейронов, вовлекающихся в обеспечение инструментального кокаиндобывательного поведения, тем выше, чем ниже концентрация кокаина в организме. Когда частота активности, постепенно нарастая, достигает определенного уровня, разворачивается инструментальное поведение, достижение результата которого — введение кокаина, проявляется в подавлении активности этих нейронов (Chang et al., 1994; Nicola, Deadwyler, 2000). Затем, по прошествии некоторого времени, концентрация кокаина опять понижается, частота активности повышается и реализуется поведение добывания кокаина — цикл повторяется.

Выводы

- С позиций системного подхода активность нейрона рассматривается не как реакция на синаптический приток, обеспечивающая проведение возбуждения, а как средство изменения соотношения со средой, «действие», направленное в будущее, которое обуславливает устранение рассогласования между «потребностями» клетки и ее микросредой.
- С позиций системного подхода нейрон предстает не как «проводник» или «сумматор», а как организм в организме, обеспечивающий свои «потребности» за счет метаболитов, поступающих от других элементов.
- Нейрон в отличие от одноклеточного обеспечивает «потребности» своего метаболизма путем объединения с другими элементами организма в функциональную систему.
- Формирование функциональных систем выступает как метаболическая кооперация нейронов. Удовлетворение всего спектра метаболических «потребностей» клеток в системе обеспечивается разнообразием реализуемых актов.
- Нейрон активен не только в процессе жизнедеятельности, но и при программируемой смерти — апоптозе.
- Новый (системно-функциональный) подход к пониманию функционирования нейрона требует изменений способа анализа его активности.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Анохин П. К. Системный анализ интегративной деятельности нейрона // Успехи физиол. наук. 1974. Т. 5. № 2. С. 5-93.
2. Швырков В. Б. Введение в объективную психологию. Нейрональные основы психики // Избранные труды / Под ред. Ю. И. Александрова. М.: Изд-во ИП РАН. 2006.
3. Александров Ю. И. Введение в системную психофизиологию // Психология XXI века / Под ред. В. Н. Дружинина. М., 2004. С. 39-85.

Дополнительная

1. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. М.: Мир, 1986. Т.Т. 1-5.
2. Александров Ю. И. Психофизиологическое значение активности центральных и периферических нейронов в поведении. М.: Наука, 1989.
3. Александров Ю. И. Макроструктура деятельности и иерархия функциональных систем // Психологический журнал. 1995. Т. 16. № 1. С. 26-30.
4. Александров Ю. И. Системогенез и смерть нейронов // Нейрохимия 2004. Т. 21. № 1. С. 5-14.
5. Александров Ю. И., Крылов А. К. Системная методология в психофизиологии: от нейронов до сознания // Идея системности в современной психологии / Под ред. В. А. Барабанщикова. М.: Изд-во ИП РАН, 2005. С. 119-157.
6. Анохин К. В. Обучение и память в молекулярно-генетической перспективе // Двенадцатые сеченовские чтения. 1996. М.: Диалог-МГУ. С. 23-47.
7. Анохин П. К. Очерки по физиологии функциональных систем. М.: Медицина, 1975.
8. Анохин П. К. Из тетрадей П. К. Анохина // Психол. журнал. 1980. № 4. С.185-187.
9. Батуев А. С. Высшая нервная деятельность. М.: Высш. шк., 1991.
10. Безденежных Б. Н. Организация функциональных синаптических полей и метаболизма корковых нейронов // Нейроны в поведении: системные аспекты / Под ред. В. Б. Швыркова. М.: Наука. 1986. С. 229-240.
11. Безденежных Б. Н. Динамика взаимодействия функциональных систем в структуре деятельности. М.: Изд-во Ин-та психологии РАН, 2004.
12. Бернштейн Н. А. Физиология движений и активность. М.: Наука, 1990.
13. Бобровников Л.В. Особенности аминокислотного обмена нервной клетки в период генерации потенциала действия // Вестник новых медицинских технологий. 1998. Т. V. № 1. С. 60-67.
14. Бринк Ф. мл. Возбуждение и его проведение по нейрону // Экспериментальная психология. М.: Иностранная литература. 1960. Т. 1. С. 93-141.
15. Виноградова О. С. Нейронаука конца второго тысячелетия: смена парадигм // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. 2000. Т. 50. № 5. С. 743-774.

16. Вирхов Р. Патология, основанная на теории ячеек (целлюлярная патология) в применении к микроскопической анатомии нормальных и ненормальных тканей. М., 1859.
17. Громов Б. В. Поведение бактерий // Соросовский образовательный журнал. 1997. №6. С. 28-32.
18. Дружинин В. Н. Структура и логика психологического исследования. М.: Ин-т психологии РАН. 1993.
19. Когхилл Дж. Э. Анатомия и проблема поведения. Эмбриология против рефлексологии. М.-Л.: Гос. изд-во биол. и мед лит-ры. 1934.
20. Крылов А. К., Александров Ю. И. Парадигма активности: от методологии эксперимента к системному описанию сознания и культуры // Компьютеры, мозг, познание: успехи когнитивных наук / Под ред. Б. М. Величковского, В. Д. Соловьева. М.: Наука, 2008. С. 133-160.
21. Кругликов Р. И. Детерминизм, активность, рефлекс // Методологические проблемы физиологии высшей нервной деятельности. М.: Наука, 1982. С. 47-85.
22. Кун Т. Структура научных революций. М.: Прогресс, 1975.
23. Кэндел Э. Клеточные основы поведения. М.: Мир. 1980.
24. Лакатос И. Фальсификация и методология научно-исследовательских программ. М.: Медиум. 1995.
25. Петренко В. Ф. Школа Леонтьева А. Н. в семантическом пространстве психологической мысли // Традиции и перспективы деятельностного подхода в психологии: школа Леонтьева А. Н. М.: Смысл, 1999. С.11-37.
26. Полани М. Личностное знание. На пути к посткритической философии. Благовещенск: БГК им. И. А. Бодуэна де Куртенэ.1998.
27. Поппер К. Логика и рост научного знания. М.: Прогресс. 1983.
28. Сахаров Д. А. Множественность нейротрансмиттеров: функциональное значение // Журн. эвол. биох. и физиол. 1990. Т. 26. № 5. С. 733-740.
29. Северцов А. Н. Эволюция и психика. М.: Издание М. и С. Собашниковых. 1922.
30. Судаков К. В. Рефлекс и функциональная система. Новгород: НовГУ. 1997.
31. Третьяк Т. М., Архипова Л. В. Внутриклеточная активность нейромедиаторов // Усп. совр. биол. 1992. Т. 112. № 2. С. 265-272.
32. Шаповалов А. И. Клеточные механизмы синаптической передачи. М.: Медицина. 1966.
33. Шерстнев В. В., Никитин В. П., Рылов А. Л. Молекулярные механизмы интегративной деятельности нейронов // Функциональные системы организма. М.: Медицина. 1987. С. 319-352.
34. Alexandrov Yu. I., Grinchenko Yu. V., Laukka S., Jarvilehto T., Maz V. N., Svetlaev I. A. Acute effect of ethanol on the pattern of behavioral specialization of neurons in the limbic cortex of the freely moving rabbit // Acta Physiol. Scand. 1990. V.140. P.257-268.
35. Alexandrov Yu. I., Grinchenko Yu. V., Laukka S., Jarvilehto T., Maz V. N., Korpusova A. V. Effect of ethanol on hippocampal neurons depends on their behavioral specialization // Acta Physiol. Scand. 1993. V.149. P.429-435.

36. Alexandrov Yu. I., Järvillehto T. Activity versus reactivity in psychology and neurophysiology // *Ecological Psychology*. 1993. V.5. P.85-103.
37. Allsopp T. E., Fazakerley J. K. Altruistic cell suicide and the specialized case of the virus-infected nervous system // *Trends in Neurosciences*. 2000. V. 23. P. 284-290.
38. Baily C. H., Kandel E. R. Structural changes accompanying memory storage // *Annual Review of Physiology*. 1993. V. 53. P. 397-426.
39. Bar M. The proactive brain: using analogies and associations to generate predictions // *Trends in Cognitive Sciences*. 2007. V. 11. P. 280-289.
40. Bonner J. T. The evolution of complexity by means of natural selection. Princeton: Princeton University Press. 1988.
41. M. Bota, Swanson L. W. The neuron classification problem // *Brain Research Reviews*. 2007. V. 56. P. 79-88.
42. Buzsaki G., Kandel A. Somadendritic backpropagation of action potentials in cortical pyramidal cells of the awake rat // *J. Neurophysiol.* 1998. V. 79. P. 1587-1591.
43. Chang J.-Yu., Sawyer S. F., Lee R.-S., Woodward D. J. Electrophysiological and pharmacological evidence for the role of the nucleus accumbence in cocaine self-administration in freely moving rats // *The J. of Neurosci.* 1994. V. 14. P. 1224-1244.
44. Edelman G. M. *Neural Darwinism: The theory of neuronal group selection*. N. Y.: Basic, 1987.
45. Edelman G. M., Finkel L. H. Neuronal group selection in the cerebral cortex. Ch.22 // G. M. Edelman, W. E. Gall, W. M. Cowan Eds. *Dynamics aspects of neocortical function*. N. Y.: Willey. 1984. P. 653-695.
46. Ellis R. D. Dynamical systems as an approach to consciousness: emotion, self-organization and the mind-body problem // *New Ideas in Psychology*. 1999. V. 17. P. 237-250.
47. Engel K. A., Fries P., Singer W. Dynamic predictions: oscillations and synchrony in top-down processing // *Nature Rev. Neurosci.* 2001. V. 2. P. 704-716.
48. Fiorillo C. D., Williams J.T. Glutamate mediates an inhibitory postsynaptic potential in dopamine neurons // *Nature*. 1998. V. 394. P. 78-82.
49. Fisher K. W., Bidell T. R. Dynamic development of action, thought and emotion // W. Damon and R. M. Lerner (Eds.) *Theoretical models of human development. Handbook of child psychology*. 6th ed., Vol. 1. 2006. New York: Wiley. pp. 313-399.
50. Fodor J. A., Pylyshyn Z. W. Connectionism and cognitive architecture: A critical analysis // *Cognition*. 1988. V. 28. P. 3-71.
51. Forti L., Cesana E., Mapelli J., D'Angelo E. Ionic mechanisms of autorhythmic firing in rat cerebellar Golgi cells // *J. Physiol.* 2006. V. 574. P. 711-729.
52. Freeman W. J. Three centuries of category errors in studies of the neural basis of consciousness and intentionality // *Neural Networks*. 1997. V. 10. P. 1175-1183.
53. Fregnac Y. A tale of two spikes // *Nature Neurosci.* 1999. V. 2. P. 299-301.

54. Guillery R. W. Relating the neuron doctrine to the cell theory. Should contemporary knowledge change our view of the neuron doctrine? // *Brain Res. Reviews*. 2007. V. 55. P. 411-421.
55. Jordan J. S. Recasting Dewey's critique of the reflex-arc concept via a theory of anticipatory consciousness: implications for theories of perception // *New Ideas in Psychol.* 1998. V. 16. P. 165-187.
56. Klopf A. H. *The hedonistic neuron. A theory of memory, learning, and intelligence.* Washington: Hemisphere publ. Corporation. 1982.
57. Koch Ch., Laurent G. Complexity and the nervous system // *Science*, 1999, 284, 96-98.
58. Koshland D. E. The bacterium as a model neuron // *Trends in Neurosciences*. 1983.V.6. P.133-137.
59. Koyama T., Kato K., Tanaka Z., Mikami T. Anterior cingulate activity during pain-avoidance and reward tasks in monkeys // *Neurosci. Res.* 2001. V. 39. P. 421-430.
60. Kuo Z. Y. The fundamental error of the concept of purpose and the trial and error fallacy // *Psychological Review*. 1928. V. XXXV. P. 414-433.
61. Matsuzaka Y., Picard N., Stric P. L. Skill representation in the primary motor cortex after long-term practice // *J. Neurophysiol.* 2007. V. 97. P. 1819-1832.
62. Milburn N. Falling stereotypes and new cell models in neurobiology // *Amer. Zool.* 1990. V.30. P. 507-512.
63. Leist M., Jaattela M. Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms // *Nature Rev.* 2001. V. 2. P. 1-10.
64. Lewontin R., Levins R. Dialectics and reductionism in ecology // *Synthese*. 1980. V.43. P. 47-78.
65. Nelson S. B., Sugino K., Hempel Ch. M. The problem of neuronal cell types: a physiological genomics approach // *Trends in Neurosciences*. 2008. V. 29. P. 339-345.
66. Nicola S. M., Deadwyler S. A. Firing rate of nucleus accumbens neurons is dopamine -dependent and reflects the timing of cocaine-seeking behavior in rats on a progressive ratio schedule of reinforcement // *The J. of Neurosci.* 2000. V. 20. P. 5526-5537.
67. NSF Task Force. *Newsletter of the Animal Behavior Society*, vol. 36 (4). Цит. по de Waal, 1996.
68. Pape H.-C., Pape D., Driesand R. B. Two types of intrinsic oscillations in neurons of the lateral and basiplateral nuclei of the amygdale // *J. Neurophysiol.* 1998. V. 79. P. 205-216.
69. Quian Quiroga R., Kreiman G., Koch C., Fried I. Sparse but not «Grandmother-cell» coding in the medial temporal lobe // *Trends in Cognitive Sciences*. 2008. V. 12. P. 87-91.
70. Ramus F. Genes, brain, and cognition: a roadmap for the cognitive scientist // *Cognition*. 2006. V. 101. P. 247-269.

71. Ranck J. B. Studies on single neurones in dorsal hippocampal formation and septum in unrestrained rats: I. Behavioral correlates and firing repertoires // *Experimental Neurology*. 1973. V. 41. P. 461-555.
72. Rose C. R., Intracellular Na⁺ regulation in neurons and glia: functional implications // *The Neuroscientist*. 1997. N 3. P. 85-88.
73. Raoul C., Pettmann B. , Henderson C. E. Active killing of neurons during development and following stress: a role for p75^{NTR} and Fas? // *Current Opin. Neurobiol.* 2000. V. 10. P. 111-117.
74. Schall J. D. Neural basis of deciding, choosing and acting // *Nature Rev. Neurosci.* 2001. V. 2. P. 33-42.
75. Sherrington Ch. Man on his nature. The Gifford lectures 1937-8. Edinburgh: Penguin Books, 1955.
76. Smolensky P. On the proper treatment of connectionism // *Behavioral and Brain Sciences*. 1988. V. 11. P. 1-23.
77. Strange K. The end of «naïve reductionism»: rise of systems biology or renaissance of physiology? // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* 2005. V. 288. P. 968-974.
78. Strassmann J. E., Zhu Y., Queller D. C. Altruism and social cheating in the social amoeba *Dictyostelium discoideum* // *Nature*. 2000. V. 408. P. 965-967.
79. Subak-Sharpe H., Brk R. R., Pitts J. D. Metabolic co-operation between biochemically marked mammalian cells in tissue culture // *Journal of Cell Science*. 1969. V. 4. P. 353-367.
80. Thompson E., Varela F. J. Radical embodiment: neural dynamics and consciousness // *Trends in Cognit. Sci.* 2001. V. 5. P. 418-425.
81. de Waal F. Good natured. The origins of right and wrong in humans and other animals. Cambridge, London: Harvard Univ. Press, 1996.
82. Webb B. Neural mechanisms for prediction: do insects have forward models? // *Trends in Neuroscience*. 2004. V. 5. P. 278-282.
83. Wilson E. O., Consilience. The unity of knowledge, A. A. Knoff, New York, 1998.
84. Woese C.R. A new biology for a new century // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2004. V. 68. P. 173-186.
85. Yuan J., Yankner B. A. Apoptosis in the nervous system // *Nature*. 2000. V. 407. P. 802-809.

Раздел II. НЕЙРОН В ФИЛОГЕНЕЗЕ

Глава 3. ПАМЯТЬ ДОНЕРВНЫХ ОРГАНИЗМОВ (о физиологических механизмах поведения простейших)

Анализ работ, посвященных изучению приобретенных форм поведения у беспозвоночных, позволяет сделать заключение о том, что способность к накоплению индивидуального опыта появляется в эволюции на самых ранних ступенях развития — у донервных простейших организмов. Однако функциональные механизмы, определяющие поведение беспозвоночных животных разного уровня филогенеза, различны. У донервных организмов формирование приобретенного поведения осуществляется за счет макромолекулярных и ультраструктурных перестроек. Обнаружена зависимость привыкания от возраста инфузорий и состояния их ядерного аппарата. В эволюционном плане весьма существенно, что характер этих перестроек однозначен у животных разного уровня филогенеза, обладающих различными функциональными механизмами приобретенного поведения. Основные закономерности функциональных механизмов поведения беспозвоночных являются по существу филогенетическим отражением принципа единства структуры и функции.

3.1. Об условных рефлексах простейших

Одной из характерных особенностей современной биологии является все возрастающий интерес к изучению поведения животных. По сравнению с позвоночными животными, закономерности формирования поведения беспозвоночных значительно менее изучены. Причем сказанное относится прежде всего к изучению их высшей нервной деятельности. Значительное отставание в изучении функциональных механизмов приобретенного поведения у беспозвоночных животных, на наш взгляд, может быть объяснено, по крайней мере, тремя основными причинами. Во-первых, трудностью содержания многих животных в лабораторных условиях; во-вторых, трудностью создания адекватных методик исследования и методов объективной регистрации поведения; в-третьих, тем, что физиологи, занимающиеся исследованием поведения беспозвоночных, далеко не всегда обладают знаниями, позволяющими свободно выбирать необходимые для изучения объекты (Тушмалова, 1973). Заметим сразу, что в филогенетическом ряду беспозвоночных наиболее изученными оказались насекомые и моллюски по

сравнению с более «простыми» организмами. Так, для моллюсков и насекомых наиболее актуальной задачей является определение степени сложности механизмов приобретенного поведения, в то время как для низших беспозвоночных необходимо вновь и вновь доказывать, что они способны к накоплению индивидуального опыта — обучению.

Рассмотрение оригинальных экспериментальных исследований, посвященных выработке у простейших условных рефлексов, убеждает в чрезвычайно разноречивой трактовке результатов. Обзору таких работ посвящен ряд публикаций, отражающих взгляды биологов зоологического и физиологического профилей (Коган, 1963; Воронин и др., 1967; Серавин, 1969, 1978; Hamilton, 1975; Тушмалова, 1980). Исследователи, иллюстрирующие возможность выработки условных рефлексов у простейших, чаще всего останавливаются на опытах Н. Н. Тимофеева (1958) и серии работ Гельбера (Gelber, 1956, 1958). Рассмотрим детально эти эксперименты, чтобы показать, что их результаты могут иметь иное объяснение, если учесть некоторые особенности ресничных инфузорий. Н. Н. Тимофеев проводил опыты на инфузориях в камере размером 10x4 мм, разделенной пополам, в каждой из половин были вмонтированы платиновые электроды. Условным раздражителем служил свет, безусловным — электрический ток (50 Гц 1-2 В). Выработка условного рефлекса заключалась в том, что инфузории «учились» только в ответ на изолированное действие света не заплывать в ту часть камеры, где давался удар электрического тока. Объясняя результаты опытов, автор акцентирует внимание на двигательных реакциях инфузорий, считая, что выработка условных реакций определяется «количеством, а возможно, и качеством самой двигательной активности», не раскрывая этого понятия. Однако опыты Н. Н. Тимофеева можно объяснить, исключая возможность формирования временных связей. Известно, что многие инфузории в ответ на различные вредные воздействия внешней среды выстреливают трихоцисты. Эту реакцию можно классифицировать как врожденную, безусловно оборонительную — сигнал «опасности» для других особей. В опытах Н. Н. Тимофеева таким «оборонительным» раздражителем был электрический ток. Формирование «условного рефлекса» во времени (постепенность выработки) на самом деле может быть следствием постепенного диффундирования относительно небольшого количества трихоцист по объему камеры. Экспериментально показано, что выстреливание трихоцист происходит в ответ на непосредственное действие различных кислот, щелочей, механических воздействий электрического тока (Prosser, Brown, 1967).

Таким образом, результаты опытов Н. Н. Тимофеева не могут служить доказательством способности простейших вырабатывать условные рефлексy.

Часто как доказательство выработки у простейших условных рефлексов приводят серию работ Гельбера по выработке у инфузорий *Paramecium aurelia* пищевых условных рефлексов. В связи с принципиальной важностью физиологической оценки этих работ в плане обсуждаемой проблемы, остановимся подробно на рассмотрении результатов этих работ. Опыты проводились следующим образом. Стерильная платиновая проволока длиной 7,6 см с диаметром кончика 0,5 мм располагалась в середине стеклянной экспериментальной лунки под углом 85° к горизонтали. Поднимание и опускание проволоки осуществлялось с помощью специального рубильника. В контрольных экспериментах было показано, что погружение проволоки в нативную культуру на 3 мин. приводит к скоплению на ней 1-2 инфузорий. При обучении проволоку опускали в лунку с голодными инфузориями на 15 с. синтервалами в 25 с. (время отсчитывали фотографическим хронометром).

Каждое третье опускание проволоки подкреплялось пищей (опускалась проволока с нанесенными бактериями). В контрольных экспериментах не было обнаружено изменений в количестве животных, что исключило возможное объяснение увеличения числа животных у проволоки за счет простого изменения двигательной активности инфузорий.

Однако в этой работе не обнаружено воздействия обучения с подкреплением, что, по мнению автора, может быть объяснено слабой или замедленной реакцией животных на эффект опускания проволоки. Хотя такое объяснение автора и не лишено основания, более вероятной причиной нам кажется нарушение процедуры выработки условных рефлексов: слишком большие интервалы между сочетаниями (оптимальные условия частоты вообще специально не изучались) и непериодичность подкрепления (лишь третье предъявление иглы сочеталось с пищей).

В дальнейшем Гельбером было показано, что выработанная реакция инфузорий — прилипание «дрессированных» животных к стерильной проволоке — сохраняется до 3 часов.

Был продемонстрирован эффект, аналогичный угасанию, у трех групп культур *P. aurelia*, обученных по описанной методике. Через 2 часа проверялось сохранение обучения. Группы перед началом проверки

получили разное количество испытаний без подкрепления: группа 1 — 10 испытаний, группа 2 — 5, группа 3 — не получала совсем. Оказалось, что через 2 часа после дачи проб группа 3 показала количество ответов, превышающее остальные группы. Группы без обучения (контрольные) дали «нулевые» ответы. Эти опыты, без сомнения, подтверждают пластичность поведения инфузорий. Однако они, как и предыдущие эксперименты автора, не дают (в силу особенностей используемой методики) ответа на природу физиологических механизмов, лежащих в основе наблюдаемого явления. Отмеченное угасание на самом деле могло развиваться по механизму привыкания к отсутствию пищевого раздражителя, что исключает условнорефлекторную природу явления.

В этой связи заслуживают внимания опыты Катца и Детерлайна (Katz, Deterline, 1958), которые использовали методику Гельбера с дополнительными контрольными экспериментами и показали, что после перемешивания жидкости в лунке с бактериями «дрессированные» бактерии не оседают на поверхности стерильной проволоки на дне лунки. В другом опыте авторы на дно лунки с голодными парамециями вносили с помощью платиновой проволоки небольшое количество бактерий. Повторив методику выработки условных рефлексов у инфузорий *P. aurelia*, они использовали только стерильную платиновую проволоку. Результаты достоверно опровергали опыты Гельбера: были получены такие же данные, как и в случае с проволокой, покрытой предварительно бактериями (инфузории без «обучения» собирались на поверхности стерильной проволоки).

Таким образом, результаты опытов Гельбера, на наш взгляд, могут свидетельствовать лишь о способности инфузорий четко реагировать на пищевое раздражение или, возможно, на изменение среды, вызванное присутствием бактерий.

3.2. Привыкание простейших

У организмов, лишенных нервной системы, могут быть более простые (неусловнорефлекторные) формы приспособительного поведения. Примером элементарного механизма накопления индивидуального опыта служит привыкание (Thorp, 1964). Под привыканием понимают прекращение реакции на постоянно действующий биологический раздражитель. Л. Г. Воронин (1968, 1969, 1972) относит привыкание простейших к несигнальной форме индивидуального приспособления. К одной из первых работ по выработке привыкания у простейших принадлежат опыты Данича (Danisch, 1921) на сувоёйках (*Vortioella*

pebulivera). Автор исследовал привыкание к механическому раздражению у инфузорий. Критерием привыкания служило прекращение сокращения стебелька сувойки в ответ на раздражение. О динамике привыкания судили по количеству сокращений, необходимых для отсутствия сокращения. В работе получена зависимость скорости выработки привыкания от силы механического раздражения: привыкание вырабатывалось тем быстрее, чем меньше была сила используемого механического раздражителя.

Позднее закономерности привыкания у простейших изучал Кинастовский. Им было подробно изучено влияние механического раздражения на сокращение инфузорий (Kinastowski, 1963). Автор в качестве механических раздражителей использовал свободно капающую каплю и специальный прибор, вызывающий вибрацию экспериментального сосуда. Оказалось, что оптимальными условиями для развития привыкания служит сила раздражителя от 400 до 1 600 эрг, частотой 10 и 15 раз/мин. Раздражение с большей силой (20 000 эрг) не приводит к уменьшению числа сокращений, а может вызывать судорожное состояние и летальный исход. Действие раздражителя оптимальной силы с частотой 1 раз в 1 мин. не снижало числа сокращений во времени. Полное прекращение реакций в ответ на механическое раздражение в оптимальных условиях опыта наступало через 13–20 мин.

В опытах Кинастовского животные с выработанным привыканием отвечали на сигнал другой модальности и на сигнал этой же модальности, но большей силы, что отличало полученный феномен от утомления. В аспекте рассматриваемых работ представляют интерес опыты А. Б. Когана (1963, 1964) на сувойках. Была показана способность этих инфузорий сокращаться в ответ на механическое раздражение — падение на предметный столик маленького свинцового шарика с высоты 3 см. Оказалось, что если к телу сувойки подвести стеклянную палочку так, чтобы выпрямление стебелька осуществлялось только на $\frac{3}{4}$ его длины, то инфузории могут изменять свое поведение (замедление выпрямления стебелька, сокращение длины при выпрямлении) и, что особенно важно, сохранять эти изменения некоторое время после прекращения раздражения — удаления палочки. Автор опытов называет такую форму поведения своеобразной приспособительной реакцией. Отсутствие условного сигнала делает невозможным предположение об условнорефлекторном механизме формирования следовых реакций в этом случае. Можно предположить, что у сувоек вырабатывалось привыкание к модифицированному сокращению.

Влияние различных факторов на выработку привыкания у инфузорий спиростом исследовал Аппельвайт (Applewhite, Morowitz, 1967; Applewhite, 1968; Applewhite, Stuart, 1969). В опытах Аппельвайта изучалось привыкание к вибрационному раздражению на популяциях из 60-100 инфузорий. Вибрационный раздражитель подавался каждые 4 с. (падение груза с силой в 70 условных единиц). Критерием привыкания служило отсутствие сокращений на три раздражения подряд (использовалась фоторегистрация). Сохранение выработанного привыкания проверялось через 15 и 30 сек. после окончания опытов. В процессе опытов выявилась зависимость привыкания от температуры: при проверке сохранения привыкания через 15, 30, 60 и 90 сек. при температурах +15, +25 и +37°C оказалось, что более быстрое забывание (большой процент сократившихся инфузорий) наблюдается при температуре 37°C.

Известно, что среда культивирования простейших может оказывать влияние на некоторые показатели функционального состояния животных (биение ресничек, изменение вязкости протоплазмы и т. п.). Поэтому особый интерес представляют эксперименты Аппельвайта и сотрудников (Applewhite et al., 1969) по изучению влияния на привыкание ионов металлов. Оказалось, что предварительное 15-минутное содержание инфузорий в растворе хлоридов калия и натрия (в концентрации от 0,5 до 0,005 моль/л), а также кальция, магния и марганца (в концентрации от 0,25 до 0,002 моль/л) не повлияло на выработку и сохранение привыкания, а воздействие ионов магния оказалось ярко выраженным. В этих опытах о динамике привыкания судили по первой, средней и последней парам раздражений, сохранение проверялось через 30 и 120 с после воздействия последнего раздражения. Двигательная активность «магневых» инфузорий при этом не изменялась. Одним из предполагаемых механизмов влияния магния на привыкание авторы считают активирование эти ионом некоторых энзимов.

Интересные данные получены Аппельвайтом и соавторами (Applewhite et al., 1969) при изучении клеточной локализации феномена привыкания. После выработки привыкания животных разрезали пополам и вновь отдельно обучали переднюю и задние части. Оказалось, что для принятого критерия выработки (отсутствие реакции до трех нулей подряд) понадобилось примерно одинаковое число механических стимулов. Анализ полученных фактов позволяет согласиться с мнением авторов работы о том, что привыкание не является следствием утомления, повреждения или местной адаптации.

Изучение роли макронуклеуса в процессе привыкания продемонстрировало отсутствие различий в динамике выработки этой реакции у половинок инфузорий, содержащих ядро и лишенных его, что позволило автору высказать предположение о локализации памяти клетки в цитоплазме.

Оценивая серию работ Аппельвайта и сотрудников по изучению привыкания у ресничных инфузорий, необходимо отметить, что они вырабатывали нестойкие реакции (отсутствие реакции на три последовательных стимула), которые при оценке динамики выработки могут быть определены как первые признаки формирования привыкания, но не как прочно выработанная реакция.

Основные закономерности выработки привыкания у *Stentor coeruleus* были изучены Вудом (Wood, 1970, 1972). У животных вырабатывалось привыкание к механическому раздражению. При постоянной частоте раздражения увеличение силы сигнала замедляло скорость выработки привыкания: в опытах с постоянной силой тока привыкание вырабатывалось тем медленнее, чем реже давался сигнал; при очень сильных раздражениях привыкание не вырабатывалось совсем. Следы привыкания в виде снижения частоты ответов на механические стимулы сохранялись в течение 3 часов.

Несомненным достоинством опытов Вуда служит использование им теста на «растормаживание» как одного из существенных показателей наличия или отсутствия обучения в такой элементарной форме, каким является привыкание. Оказалось, что привыкание, выработанное на механический стимул с силой в 0,04 усл. ед., не растормаживается после однократного раздражения большей силой (0,12 усл. ед.) или после подпорогового раздражения электрическим током. По мнению автора, неспособность к растормаживанию служит единственным отличием свойств привыкания одноклеточных организмов от высших животных.

Оригинальную форму обучения у стентора наблюдали Беннет и Френсис (Bennet, Francis, 1972). Критерием обучения служило сокращение времени передвижения стентора в капиллярной трубке, соединенной с относительно большим резервуаром, наполненным водой. При повторении проб с частотой один раз в 60 сек. время сокращалось от 58 сек. в первой пробе до 31 сек. в третьей. Реакция сохранялась примерно на одном уровне в течение 30 мин. Было показано также, что обучение происходит лишь при строгом соблюдении определенных условий опыта — вертикальном расположении капиллярных трубок с внутренним диаметром не более 0,5 мм. В трубках с диаметром 1 и 2 мм

обучения не происходило. Авторы приходят к выводу о том, что изученный вид обучения есть не что иное, как результат привыкания стентора к механическому стимулу. Знакомство с экспериментами Беннета и Френсиса позволяет нам подобное объяснение считать справедливым.

Итак, приведенный материал показывает, что одноклеточные организмы обладают свойством изменять поведение под влиянием различных раздражителей. Эти изменения сохраняются в течение 30-60 мин., а иногда до 3 часов. Сохранение следов от раздражений свидетельствует о способности простейших к накоплению индивидуального опыта.

Наиболее детально вопрос о характерных особенностях функциональных механизмов, определяющих поведение простейших, был исследован в серии работ Н. А. Тушмаловой с сотрудниками (Тушмалова, 1968, 1974, 1977; Тушмалова, Доронин, 1971; Доронин, 1974; Тушмалова, Зазулина, 1977; Доронин, Тушмалова, 1978; Тушмалова, Кузьмичева, 1979). Приступая к изучению привыкания у донервных животных на примере привыкания *Spirostomum ambiguum* к вибрационному раздражению, авторы поставили своей целью прежде всего ответить на вопрос: в какой степени привыкание простейших соответствует понятию приобретенное поведение, выработанному в опытах на позвоночных животных и высших беспозвоночных. Были изучены такие свойства привыкания, как тренированность, растормаживание, информационная значимость интервалов между раздражениями, зависимость выработки этого феномена от исходного функционального состояния и возраста животных. По динамике реакции привыкания всех животных можно отнести к двум группам. В первой группе привыкание было относительным и заключалось лишь в уменьшении числа сокращений в единицу времени. Во второй группе животных реакция была абсолютной: в ответ на раздражение сокращения отсутствовали. Первое проявление привыкания отмечено после 1-10 мин; отсутствие сокращений до 10 нулей подряд — после 13-47 мин. Как показал анализ экспериментальных данных, оптимальными следует считать сигналы, действующие через промежутки времени, сравнимые с рефрактерными периодами (около 5 сек.), а по силе — с порогом сокращения инфузорий. Быстрее всего привыкание развивается при действии сигнала через 7 сек. При увеличении интервала между раздражениями увеличивается время, необходимое для достижения 100%-ного угашения реакции. Однако реакция вырабатывалась и при сигнале, действующем значительно реже — через 1 мин.: в этих случаях феномен развивался значительно медленнее.

Привыкание вырабатывалось и при раздражении 1-9 раз в минуту. Однако для достижения критерия 10 нулей требовалось значительно больше времени (до 50 мин). Наиболее четко значение временного интервала в динамике выработки привыкания было продемонстрировано в опытах с применением раздражителей в аритмическом режиме, по случайному закону, отмечалось замедление в выработке привыкания при аритмическом режиме раздражения. Как и у более высокоорганизованных животных, у инфузорий были выявлены индивидуальные отличия в динамике привыкания (рис. 3.1). У животных с выработанным привыканием в 100% сохранялась реакция на сигнал другой модальности и более сильный сигнал этой же модальности, что отличает изучаемый феномен от утомления. Условия, при которых наблюдалось утомление инфузорий, резко отличались от условий выработки привыкания. Нереагирование на сигнал любой силы и частоты — утомление — развивалось в результате длительной стимуляции инфузорий до 3-4 часов с частотой раздражения 1 раз в 1 сек. и силой, превышающей пороговую в 4-5 раз.

При изучении ультраструктурных изменений инфузорий в процессе привыкания также обнаружены разнонаправленные сдвиги при привыкании и утомлении в ядрышке макронуклеуса. Так, привыкание сопровождалось активацией ядрышка — увеличением синтеза рибосомной РНК. При утомлении наблюдалось резкое снижение синтеза рибосомной РНК.

Анализ результатов показал, что привыкание к вибрационному раздражителю может быть отнесено к категории явлений, характеризующих следовые процессы, т. е. к памяти. Неясным оставался вопрос о том, в какой степени следовые явления одноклеточных обладают свойствами, общими с другими, более высокоорганизованными животными. Одним из критериев приобретенности (выработанности) реакции служит способность к растормаживанию. Использование приема растормаживания привыкания показало, что эта реакция никогда не восстанавливается при действии экстренных раздражителей, более слабых, чем агент, на который было выработано привыкание. При действии же раздражителей большей силы, чем индифферентный, растормаживание носило случайный характер. Воздействия стимулами другой модальности (электрический ток, культуральная среда, насыщенная кислородом или углекислотой) не дали положительных результатов. Эффект растормаживания привыкания был отмечен лишь при действии очень сильного раздражителя — пищевого, т. е. при внесении в камеру с инфузориями капли бактериальной суспензии.

Для выяснения вопроса, какой же из факторов (рН среды или непосредственно бактерии) является действующим, в контрольных экспериментах в камеру вносили каплю прокипяченной суспензии, либо фильтрат суспензии бактерий, либо чистый подщелоченный культуральный раствор. Статистически достоверное растормаживание наблюдалось только при использовании капли культуральной среды повышенной щелочности ($pH > 8$).

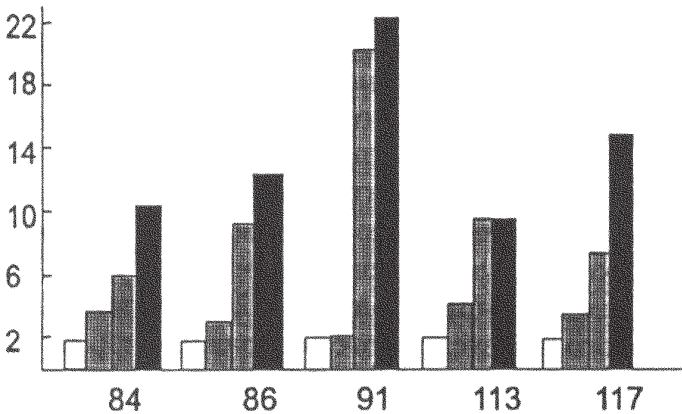


Рис. 3.1. Динамика выработки привыкания у отдельных инфузорий. По оси ординат — время, мин.; по оси абсцисс — номера инфузорий. Обозначения: светлые столбцы диаграмм — время, необходимое для достижения одного нуля, с сетчатой штриховкой — трех, с косой штриховкой — пяти и черные — десяти нулей (по: Гушмалова, 1972).

Помимо растормаживания, важным критерием способности животных формировать следовые реакции является ускорение обучения при неоднократном повторении процедуры обучения — тренированность. У популяции инфузорий привыкание вырабатывалось в течение 20 мин., затем инфузории отсаживались в часовое стекло с культуральной жидкостью. Через 60 мин. клетки вновь подвергались воздействию вибрационного раздражителя. Процедура повторялась 5-6 раз. Анализ полученных данных показал, что при первом применении раздражителей (первый опыт) уровень ответов снижается до 35-40%. По мере повторения опытов достоверно уменьшается вероятность сокращения только на первые раздражители. При 5-й и 6-й повторностях инфузории реагируют на механический стимул с вероятностью, которая не отличается ($P > 0,9$) от уровня ответов в конце первого опыта. Таким образом, процесс трени-

рованности привыкания у инфузорий выражается только в понижении вероятности сокращения на первые стимулы по мере применения серий раздражителей (при интервале между опытами 60 мин.) (рис. 3.1).

Не отмечено прямой зависимости динамики привыкания от уровня спонтанной двигательной активности и пищевой возбудимости: скорость выработки не зависела от числа пищеварительных вакуолей. Однако при длительном голодании привыкание не вырабатывалось. Обнаружена зависимость привыкания от возраста инфузорий и состояния их ядерного аппарата. Оптимальным для формирования привыкания оказался возраст 45-55 час. после деления (примерно 50% продолжительности жизни). В возрасте 105 час., когда макронуклеус инфузорий находится в состоянии конденсации (физиологическая реорганизация, по И. Б. Райкову, 1967), привыкание не вырабатывалось.

Говоря о привыкании простейших, важно подчеркнуть, что этот феномен проявляется не только у ресничных инфузорий, но и у более простых одноклеточных — *Amoeba proteus*. Н. А. Тушмалова и И. Л. Кузьмичева (1978, 1979) изучали закономерности формирования привыкания амёб на периодическое предъявление света 800-2000 лм с интервалом в 1-2 мин. Критерием выработки привыкания служило прекращение течения цитоплазмы в ответ на 10 предъявлений света подряд. Как и у ресничных инфузорий, у амёб было выявлено абсолютное привыкание (52,5%) и относительное — уменьшение числа ответных реакций (47,5%). Оказалось, что по зависимости скорости выработки привыкания от силы и частоты раздражения этот феномен у амёб сопоставим с таковым у спиростом.

Таким образом, проведенные опыты показали, что приобретенное поведение простейших обладает свойствами, общими с таковыми у животных, имеющих нервную систему, и одновременно несет черты более примитивной организации.

Выводы

- Способность к накоплению индивидуального опыта появляется в эволюции на самых ранних ступенях развития — у донервных простейших организмов.
- Функциональные механизмы, определяющие поведение беспозвоночных животных разного уровня филогенеза, различны: из двух форм эволюции ВНД сигнальная форма индивидуального приспособления появляется лишь у полихет, а низшим червям, кишечнорастворимым и простейшим свойственна несигнальная форма приспособления.

- Характер формирования приобретенного поведения у донервных организмов за счет макромолекулярных и ультраструктурных перестроек однозначен у животных разного уровня филогенеза, обладающих различными функциональными механизмами приобретенного поведения.

- Данные по изучению механизмов поведения простейших свидетельствуют в пользу гипотезы о том, что протоплазма клеток организмов, обладающих нервной системой, сохраняет свойства простейших — способность формировать следовые реакции за счет внутриклеточных перестроек. С этих позиций усложнение (совершенствование) функциональных механизмов поведения по мере возрастания эволюционного уровня определяется структурными изменениями нервной системы.

- Данные исследований на простейших являются убедительной иллюстрацией одного из важных методологических положений нейрофизиологии о зависимости «качественно нового ранга рефлекса — условного рефлекса» от уровня развития нервной системы.

- Основные закономерности механизмов поведения беспозвоночных являются по существу филогенетическим отражением принципа единства структуры и функции.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Тушмалова Н. А., Маракуева И. В. Сравнительно-физиологическое исследование ультраструктурных аспектов памяти. М.: Наука, 1986. 147 с.

2. Тушмалова Н. А. Функциональные механизмы приобретенного поведения у низших позвоночных. Московский университет, 1986. 108 с.

3. Козлов А. Т., Тушмалова Н. А. Структура и механизмы поведения беспозвоночных. Воронеж: «Квадрат», 1995. 170 с.

4. Тушмалова Н. А. Основные закономерности эволюции поведения беспозвоночных // Физиология поведения. Нейробиологические закономерности. Л.: Наука, 1987. С. 236-265.

Дополнительная

1. Тушмалова Н. А., Егорова Е. И. Использование поведенческих реакций гидробионтов в системе оценки качества окружающей среды. Обнинск, 2003. 52 с.

2. Тушмалова Н. А. в числе коллектива авторов. Биологический контроль окружающей среды. Биоиндикация и биотестирование. М.: «Академия», 2007. 287 с. Гл. 3 3.4.4. Физиологический подход.

3. Тушмалова Н. А. Основные закономерности эволюции поведения беспозвоночных. Хрестоматия по зоопсихологии и сравнительной психологии. М.: Российское психологическое общество, 1997. 308 с. С. 30-43.

Глава 4. ПРОИСХОЖДЕНИЕ НЕРВНЫХ КЛЕТОК

Существует две основные точки зрения на происхождение и эволюцию нервных клеток. В соответствии с гипотезой Гертвигов (Hertwig, 1878), источником всех нервных клеток является первичная чувствительная клетка, возникшая из эктодермы и получившая возможность воспринимать раздражения, генерировать и проводить возбуждение. Специализированные отростки этих клеток вступают затем в связь с независимо возникшими мышечными клетками. По гипотезе Клейненберга (Kleinenberg, 1967) и Заварзина (1950), нервная и мышечная системы возникли одновременно в виде образования, которое первоначально не имело дифференцированных мышечных и нервных компонентов. В дальнейшем произошла дифференциация чувствительно-сократимых клеток на сенсорные и моторные. Обе теории роднит то, что они не вскрывают биологические причины возникновения нервной системы. Для эволюционной реконструкции появления нервных клеток предлагается обратить внимание на такой важнейший фактор эволюции нервной системы, как уровень метаболизма. Нейроны обладают метаболизмом, сопоставимым с нагруженными мышечными клетками, что требует оценки происхождения нервной ткани именно с этих позиций. Важнейшим параметром эволюции нервной системы является уровень метаболизма нервной системы. На основании этого положения и допущения о том, что нервные клетки возникли из эктодермы, делается попытка определить «метаболические» биологические причины и воссоздать механизмы появления первых нервных клеток (пронейронов) из пинакоцитов клеточной системы губки. По итогам такой реконструкции самые первые этапы эволюции нервной системы представляются следующим образом: трансформация пинакоцитов в пронейроны; интеграция отдельных пронейрональных клеток в элементарную сеть; интеграция пронейронов и пинакоцитов, способных сокращаться (появление специализированных чувствительных и двигательных нейронов). Примитивная пронейрональная система могла принципиально изменить как биологию организмов, так и их эволюционное будущее. Нервная система давала огромное преимущество, которого невозможно достичь при помощи универсальных свойств неспециализированных клеток донервных организмов, а именно — увеличения скорости реакции организма на изменяющиеся внутренние и вне-

шние условия. Как только нервная система позволила животным быстро адаптироваться к изменяющимся условиям, активно разыскивать пищу и половых партнеров, наступило время динамичной эволюции животного мира. Началась конкурентная эволюция эффективности нервных систем, которая быстро превратилась в физическую битву морфологических конструкций.

4.1. Донервные механизмы взаимодействий со средой

Существование любого организма складывается из добывания пищи, размножения, межвидовых и внутривидовых взаимодействий. Животные едят, размножаются, мигрируют, приспосабливаются к изменчивым условиям среды, ухаживают за потомством, стареют и умирают. Большая часть этих событий обусловлена инстинктами или контролируется физиологическими механизмами. Только незначительная часть поведения животных является результатом адаптации индивидуального опыта к конкретным условиям. Эту способность часто называют элементарным мышлением животных, которое служит предтечей рассудочной деятельности человека. Для удовлетворения всех физиологических потребностей организма необходима энергия, которая поступает из окружающей среды. Любой биологический объект существует до тех пор, пока через него проходит поток энергии в виде пищи (для животных) или электромагнитного излучения в сочетании с неорганическими соединениями (для растений).

Основная активность мозга направлена на то, чтобы получать как можно больше энергии и как можно меньше ее расходовать. Нервная система является источником быстрой реакции организма на любые изменения окружающей среды. Чем она эффективнее работает, тем меньше животное находится в неблагоприятных условиях и дольше в благоприятных. Неблагоприятными условиями можно считать любые ситуации, связанные с безвозвратной и невосполнимой потерей энергии. Идеальные условия существования приводят к переносу индивидуальной морфогенетической информации в следующее поколение — размножению. Чем больше таких переносов, тем выше приспособленность и адаптированность вида. Иначе говоря, шансы на выживание и процветание вида возрастают, если животное не проявляет активности, но потребляет много энергоемких соединений и в результате эффективно и часто размножается.

Эта простая биологическая цель универсальна для любого организма. Существует несколько вариантов ее успешного достижения. Можно специализироваться на относительно неконкурентных источниках

энергии — электромагнитном излучении и неорганических соединениях, как растения. Пока этого ресурса достаточно, процветают самые разнообразные формы растений. Однако как только возникает дефицит какого-либо компонента этого ресурса, начинается конкуренция. Растения не имеют нервной системы в традиционном понимании этого слова, но им все-таки необходимо адаптироваться к изменяющимся условиям среды. Эта адаптивность построена на химической, электромагнитной и механической чувствительности специализированных клеток, которые известны у одноклеточных организмов, дрожжей, грибов, лишайников и растений. Примером может быть комнатное растение арабидопсис (Bream, Davis, 1990). В специальных исследованиях было установлено, что дождь, ветер и простое потягивание за лист прекрасно детектируются растением. Такие воздействия не только приводят к изменению мембранных потенциалов клеток, но и запускают глубокие адаптивные процессы. При этом количество РНК за 10–15 мин. может увеличиться в 100 раз и экспрессируется целый комплекс специализированных генов. Происходит адаптивное изменение метаболизма растения. Если воздействие на растение продолжается, то изменяются гистогенетические процессы и цикл повторяется. В конце концов мы видим фенотипически сильно измененные растения одного вида в различных ареалах обитания.

Все живые клетки могут реагировать на два типа внешних воздействий: химический состав окружающей среды и механические воздействия. Это фундаментальные свойства клеток, лежащие в основе любых физиологических процессов. Собственно эти свойства и определяют способность организмов без нервной системы к механо- и хеморецепции. Есть и третий источник информации — электромагнитное излучение. Способность воспринимать свет развита практически у всех организмов. Хлорофилл и способность синтезировать органические соединения делают автотрофные организмы исключительно адаптивными.

Таким образом, практически любой организм без нервной системы может реагировать на три типа внешних воздействий. Механо- и хеморецепция имеют контактный характер, а фоторецепция — дистантный, хотя такой строгой дифференциации проводить не стоит. В водной среде механо- и хеморецепция дистантные. Организмы могут двигаться и расти по градиентам воздействий такого типа или против них. Понятно, что все три типа чувствительности могут быть как положительны-

ми, так и отрицательными. Перечисленных качеств организмов, имеющих нервной системы, вполне достаточно для осуществления сложных адаптивных перестроек.

Все реакции развиваются медленно и связаны с морфогенетическими процессами перестройки всего организма. Конечно, есть примеры и относительно быстрых реакций листьев растений на прикосновение или при охоте на насекомых, но все эти реакции осуществляются несопоставимо медленнее, чем у животных. При этом чем крупнее растение, тем медленнее видимые реакции на химические, механические и электромагнитные воздействия. Сложности заключаются в механизмах передачи и хранения информации. Полученная в зоне воздействия информация распространяется медленно или локализуется. Лист сжался от прикосновения, но только в месте контакта. Корень изменил направление роста, упервшись в камень, но соседний корешок не узнает об этом и повторит его путь. Информация о воздействиях внешней среды сохраняется только в форме тела растений, как в своеобразной структурной памяти. Она хранится как индивидуальная форма, но не используется для оперативных целей. Размер растений предопределяет их инертность, а пожизненный адаптивный морфогенез компенсирует низкую скорость реакции на внешние воздействия. Растения адаптировались без специализированных тканей нервной системы, но не без аналогичных функций. Эти функции равномерно распределены между тканями растения и базируются на фундаментальных свойствах живых клеток.

Совершенно другое впечатление производят одноклеточные организмы, содержащие и не содержащие хлорофилл. По сути дела, на уровне одноклеточных организмов царства растений и животных практически не различаются. Жгутиконосцы могут иметь фотосинтезирующие органеллы, а могут прекрасно жить и без них. Понятно, что в первом случае их надо отнести к растениям, а во втором — к животным. Простейшие более не разделяются на животных и растения и представляют собой смешанную группу автотрофных организмов. От нее берут начало и три царства многоклеточных организмов: растения, грибы и животные. Эта логичная классификация вполне подтверждается и общими рецептивными принципами как простейших, так и трех основных групп многоклеточных. Во всех четырех группах представлен рецепторный аппарат, состоящий из хемо- и фоторецепторов. Все клетки этих организмов обладают потенциалом покоя и спонтанной электрической активностью. Различия

сводятся к механизмам передачи, хранения и использования получаемой из внешней среды информации. Простейшие в этом отношении являются в некотором роде идеальными моделями донервного поведения.

Относительно небольшие размеры простейших дают возможность непосредственно использовать рецепторный аппарат мембраны для быстрого изменения поведения. Размер большинства простейших обычно не превышает нескольких миллиметров. Это не значит, что нет более крупных одноклеточных. Однако небольшие одноклеточные дают наиболее выраженный пример сложного и даже рефлекторного поведения. Сенсорный аппарат простейших сходен с таковым у растений, но цитоплазматически намного более специализирован. Общая химическая чувствительность простейших хорошо известна. Простейшие прекрасно двигаются по градиенту пищевых растворов и избегают растворов щелочей, кислот и солей. Присутствие в растворах катионов калия, лития, натрия и аммония вызывает реверсию активности ресничек и жгутиков, которые служат для передвижения многих простейших. Надо отметить, что положительный и отрицательный хемотаксис инфузорий лег в основу теории поведенческих тропизмов Ж. Леба. Тропизмами, или таксисами, Ж. Леб называл простые реакции растений и животных на свет, химические вещества, источники электромагнитных полей и т. д. Например, если животное двигалось в сторону света, Ж. Леб называл это положительным фототропизмом, если от света — отрицательным. Наиболее популярными были исследования, связанные с гелиотропизмом (движение к солнцу или от него), термотропизмом (движение к теплу или от него), хемотропизмом (движение к веществу или от него), геотропизмом (чувствительность к направлению гравитационных сил), тигмотропизмом (чувствительность к механическому контакту), цитотропизмом (стремление клеток к адгезивному слипанию или разделению) и реотропизмом (движение в потоке воды). В основе учения Ж. Леба лежит универсальная способность цитоплазмы клеток всех живых организмов к раздражению.

Поскольку этим свойством обладают все клетки, Ж. Леб делает вывод о единстве животных и растений, а заодно и о незначительной роли нервной системы. Он совершенно серьезно писал: «У животных, обладающих нервами, явления гелиотропизма вызываются теми же причинами (формой тела и раздражимостью протоплазмы клетки), как и у растений, не имеющих нервной системы. Таким образом, явления тропизма не могут основываться на специальных свойствах централь-

ной нервной системы...». Несмотря на всю оригинальность таких представлений, теория Ж. Леба нашла многочисленных сторонников. Его последователи начали проверять раков на «хининовый таксис», червей на «солевой таксис», лягушек и рыб на «электрический таксис». Возникла даже разветвленная система понятий, которые предусматривали различие таксиса и тропизма. Тропизмом стали называть изменение ориентации или направления роста прикрепленного организма. Обладателями тропизмов считали растения. Под таксисом подразумевали уже самодвижущийся организм, который или удалялся, или приближался к источнику раздражения (Iftode, Prajer, Frankel, 2001; Barbanera, Egga, Banchetti, 2002).

Понятно, что такие «жизненно важные» таксисы и тропизмы не только ничего не добавляли к психологии, но и превращали зоопсихологию в теолого-лингвистическую науку. Сторонники теории тропизмов не остановились на уравнивании тропизмов животных и растений. Они успешно доказывали, что зрительное восприятие человека ничем не отличается от фототропизма инфузорий. Смысл этих доказательств состоял в поиске универсальной единицы поведения — «атома», который они называли тропизмом, или таксисом. Ж. Леб и его последователи считали, что, найдя некоторое количество универсальных единиц поведения, они смогут «вычислить» или «расчленил» любое сложное поведение животного и мышление человека (Савельев 1998, 2001, 2005).

Однако реакции простейших построены далеко не на общей клеточной чувствительности, характерной для растений. У простейших известны и сложные специализированные рецепторы — органоиды. Такими рецепторами являются ложноножки корненожек *Allogromia* sp. или осезательные волоски трубоча *Stentor* sp. В качестве особой фоторецепторной системы формируются глазки, или стигмы. Эти образования пигментированы, позволяют простейшим ориентироваться в градиенте света и дифференцировать различные длины волн светового диапазона. Описаны эксперименты, в которых удавалось выработать рефлекторное поведение парameций на красный и синий свет. Стигмы особенно хорошо развиты у динофлагеллат, эвглен и фитофлагеллат. Следует отметить, что среди простейших существуют группы (Амеоба), прекрасно реагирующие на свет, но не имеющие специализированных мембранных органелл для его восприятия (Meglitsch, Schram, 1991).

Следовательно, простейшие организмы способны к автономному питанию, размножению, движению и адаптации к изменяющимся ус-

ловиям внешней среды. Наличие эффективных органов движения является принципиальным отличием простейших от растений. Если есть активное движение, значит, можно наблюдать и быстрые поведенческие реакции. Их существование свидетельствует о механизмах системного управления простейших, которые построены по аналогии с нервной системой, тем более что при отсутствии нервной системы они проявляют прекрасную обучаемость.

Следовательно, при большом желании у любого живого организма можно увидеть признаки сложного поведения. Для этого достаточно рецептивного аппарата растений в сочетании с быстрым ответом любых эффекторных систем. Все аналогичные события происходят и у растений, но скорость процессов так отличается от темпов нашей жизни, что быстрые, с позиций растений, ответы на внешние воздействия мы не замечаем.

Объединив результаты различных наблюдений и опытов, можно суммировать набор донервных способов контроля поведения простейших. Они могут рецептировать все основные типы внешних воздействий и отвечать на полученные сигналы различной активностью: пищевым поведением, размножением или движением по градиенту сигнала. Благодаря длительности биохимических реакций, они могут создавать иллюзию «запоминания» индивидуального опыта. Это поведение проявляется в привыкании к определенным типам воздействий или избегании раздражителя. После завершения инерционных биохимических процессов псевдопамять исчезает без какого-либо следа. Следовательно, инерционная биохимическая память одноклеточных является своеобразным предшественником нейронной памяти многоклеточных (Вестхайде, Ригер, 2008).

Растения и животные, не имеющие нервной системы, обладают развитой чувствительностью ко всем основным типам сигналов: химическим, механическим и электромагнитным. Эти воздействия вызывают реакции довольно быстро: в течение долей секунды у простейших и секунд/минут у растений. При отсутствии нервной системы возможен выбор основного направления ответа зависит от размера организма. Простейшие реагируют быстро и очевидно, а растения медленно, что маскирует их высокую чувствительность к внешним влияниям. Краткосрочная память имеется у всех организмов, но она построена на биохимических внутриклеточных процессах. Это делает невозможным использование механизмов индивидуального научения.

Следовательно, основным принципом донервного взаимодействия с внешней средой является общая клеточная чувствительность, которая имеет избирательный характер. Общая клеточная чувствительность построена на трех различных рецепторных механизмах: механочувствительности, хемочувствительности и электромагнитной рецепции. Однако эти условные «сенсорные варианты восприятия мира» далеко не равноценны. Надо подчеркнуть, что иллюзию осознанности поведения одноклеточных формирует скорость ответа на неспецифические влияния. Основные различия построены на скорости реакции при внешнем воздействии на организм. Если организм по сравнению с нами маленький и реагирует быстро, то нам кажется, что реакции осознанны и сходны с поведением животных, имеющих нервную систему. Отсутствие оперативной индивидуальной памяти компенсируется генетически детерминированными реакциями или направленным морфогенезом. Если бы растения и простейшие располагали индивидуальной памятью, они были бы самыми опасными существами на планете. К нашему счастью, для этого нужна нервная система.

4.2. Возникновение нервных клеток

Основной биологической причиной возникновения нейронов стала низкая скорость получения информации о внешнем и внутреннем мире организма с донервной организацией. Ткани архаичных многоклеточных организмов состояли из слабодифференцированных клеток со сходной химической, электромагнитной и механической чувствительностью. Такой организм не использовал для адаптации оперативные сведения из внешнего мира и от собственного тела (Lipps, Signor, 1992). Решение проблемы без участия нервной системы было найдено растениями и одноклеточными животными, что разбираюсь выше.

Этот путь оказался биологически очень успешным и привел к появлению процветающих групп организмов. Можно сказать, что растения и одноклеточные животные выиграли ничуть не меньше, чем животные с развитой нервной системой. Тем не менее, нервная система возникла. Она давала одно, но огромное преимущество, которого невозможно достичь при помощи универсальных свойств неспециализированных клеток. Это увеличение скорости реакции организма на изменяющиеся внутренние и внешние условия. Как только нервная система позволила животным быстро адаптироваться к изменяющимся условиям, активно разыскивать пищу и половых партнеров, наступило

время динамичной эволюции животного мира. Скорость решала почти все проблемы. Конкуренция за источники питания привела к появлению бесконечного разнообразия растительноядных организмов, но они сами были питательнее растений. Еще более быстрые и эффективные хищники должны были обладать более совершенной нервной системой, чем травоядные. Это касалось как позвоночных, так и беспозвоночных животных. Кто обладал эффективной нервной системой, тот быстрее поднимался на вершину пищевой цепочки, питаясь не грубой растительной пищей, а калорийными родственниками. В самом общем виде эта ситуация сохранилась и в социальных структурах высших приматов.

Преимущества и достоинства нервной системы вполне понятны. Причины ее появления вполне логичны и не вызывают сомнения. Совершенно иная ситуация с вопросом о том, как это произошло. Происхождение нервных клеток в процессе эволюции животных всегда представляло интерес, но до настоящего времени довольно спорно. Существует несколько основных точек зрения на эту проблему. Наибольшее распространение получила точка зрения братьев Гертвигов (Hertwig, 1878). Их гипотеза состоит в том, что нервные и мышечные клетки происходят из эктодермального эпителия. Они возникают независимо друг от друга и вступают во взаимодействия уже вторично (рис. 4.1, а-в). В соответствии с гипотезой Гертвигов источником всех нервных клеток является первичная чувствительная клетка, возникающая из эктодермы и получившая возможность воспринимать раздражения, генерировать и проводить возбуждение. Специализированные отростки этих клеток вступают в связь с независимо возникшими мышечными клетками. По мнению авторов этой гипотезы, мышечные волокна дифференцировались из клеток, сходных с эпителиально-мышечными клетками кишечнорастворимых. Такой простейший нервно-мышечный комплекс развивается по пути дифференциации нервного аппарата, что приводит к возникновению вставочных нейронов или ганглиев (рис. 4.1, в). Нервная система подразделяется на чувствительные клетки, лежащие в эктодерме, и вставочные нейроны, обладающие интегративной функцией. Вставочные нейроны являются предвестниками централизации обработки сенсорной информации и возникновения мозга. На выходе расположены эффекторные нейроны, иннервирующие мышцы и железы. Подтверждением этой гипотезы является эмбриональное происхождение и организация нервно-мышечных взаимодействий у современных животных.

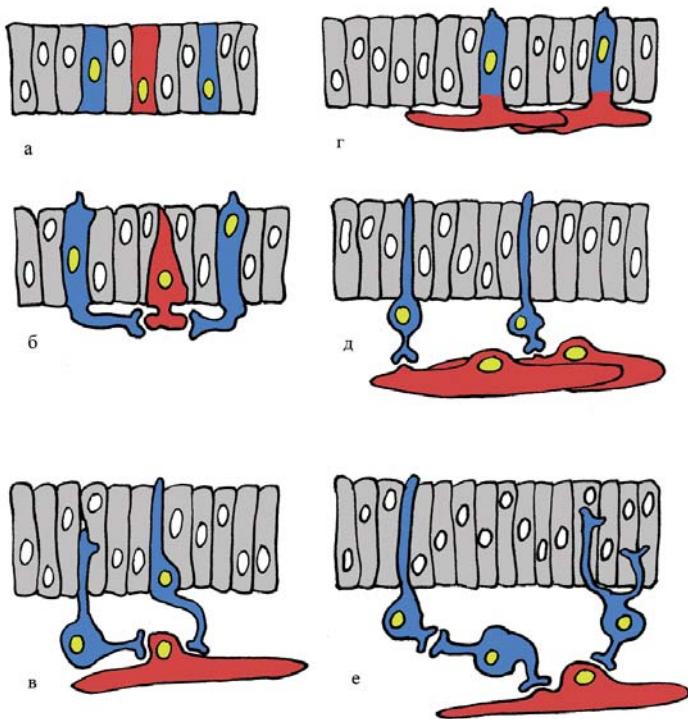


Рис. 4.1. Две гипотезы происхождения нервных и мышечных клеток: а-в — гипотеза братьев Гертвигов; г-е — гипотеза Клейненберга-Заварзина. По гипотезе Гертвигов, нервные и мышечные клетки происходят независимо из эктодермы, а затем объединяются в нервно-мышечный комплекс. По представлениям Клейненберга-Заварзина, из эктодермы возникает клетка одновременно с сенсорными и моторными функциями. Затем она дифференцируется на нервную и мышечную системы. Красные — мышечные клетки или волокна, синие и фиолетовые — чувствительные нервные клетки.

Другая точка зрения на происхождение нервных клеток была разработана в исследованиях Клейненберга и Заварзина (Заварзин, 1950; Kleinenberg, 1967). Ее суть сводится к тому, что нервная и мышечная системы рассматриваются как «единое и нераздельное целое».

Считается, что обе системы возникли одновременно в виде образования, которое не имело дифференцированных мышечных и нервных компонентов. В соответствии с этой гипотезой первичными были клет-

ки, выделившиеся из эктодермы и обладавшие как нервными, так и мышечными функциями (рис. 4.1, г, д). Предполагается, что одна часть клетки была способна к чувствительности, а другая — к сокращению. В гипотезе подчеркивается первичность морфофункциональной связи между нервными и мышечными клетками. В дальнейшем, по мнению авторов, произошла дифференциация чувствительно-сократимых клеток на чисто сенсорные и моторные, а общность их происхождения стала основой нервно-мышечных взаимодействий (рис. 4.1, е). Подтверждением этой гипотезы может быть организация светочувствительных клеток сетчатки глаза современных позвоночных. Во всех палочках и колбочках глаза амфибий, рептилий, птиц и млекопитающих, за исключением приматов, существуют комплексы сократимых белков. Они позволяют активно перемещать рецепторную часть сенсорной клетки при изменении освещенности сетчатки.

Обе теории роднит то, что они ничего не объясняют. Непонятно, зачем вообще понадобились нервные, да и мышечные клетки, почему они возникли одновременно и откуда взялись отростки нервных клеток вместе с особыми свойствами рецептировать, генерировать и проводить сигналы. В дискуссии о природе нервно-мышечных взаимодействий как-то сам собой исчез биологический смысл происхождения нервных клеток. Этот вопрос можно рассмотреть и с других позиций.

Сначала определимся с эпохой и животными, претендующими на первенство в появлении нервной системы. Если рассмотреть возможных кандидатов на это почетное место, то самыми соблазнительными выглядят кишечнополостные, или стрекающие (Cnidaria) — радиально-симметричные, прикрепленные и свободноплавающие животные с одним анусо-оральным отверстием и несложной биологией. Стенка тела сформирована всего двумя слоями клеток и промежуточной тонкой неклеточной мезоглеей. В наружном слое клеток лежат уникальные клетки — книдоциты, содержащие стрекательные органеллы. Таких клеток нет у многоклеточных других групп. Их диффузная нервная система распределена в мезоглее и слабо дифференцирована. Нервные клетки весьма универсальны и обладают как чувствительной, так и эффекторной функцией. Они объединены в сеть с радиальной симметрией почти без выраженных ганглиев (Беклемишев, 1964; Барнс и др., 1992). Единственным местом, пригодным на роль нейрального центра, является окологлоточное нервное кольцо.

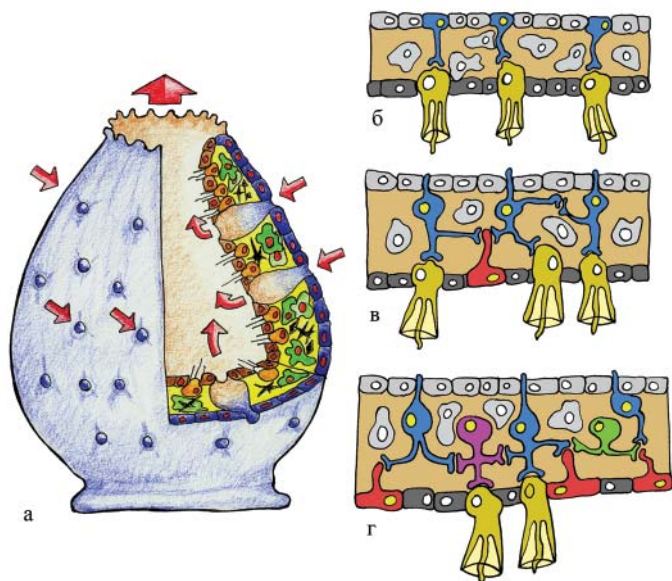


Рис. 4.2. Гипотетические этапы происхождения нервных клеток в процессе эволюции многоклеточных: а — разрез современной губки с простейшей асканоидной организацией без нервных клеток, который можно рассматривать в качестве исходного типа; б — этап первичной физиологической дифференцировки и появления отростков у клеток эктодермы направленных к источникам питания; в — дифференцировка мезодермальных сократимых клеток и первичной нервной сети; г — образование нервной сети, вставочных нейронов и протоглиальных клеток, специализирующихся на трофических функциях. Стрелками показано движение воды через губку. Синий цвет — протонейроны, зеленый — вставочные нейроны, фиолетовый — протоглиальные клетки, красный — сократимые клетки.

Столь же незатейливо и поведение этих животных. Прокачивание воды и захват щупальцами проплывающей мимо добычи — не самое интеллектуальное занятие, поэтому симбиотические рыбки из рода *Amphiprion* легко обманывают простодушных актиний и пользуются их защитой. Актинии вступают в симбиотические отношения с другими видами рыб, офиурами, креветками-чистильщиками, гребневиками, крабами и раками-отшельниками. Однако при всей кажущейся простоте кишечнополостные обладают уже функционально специализированной нервной системой. У многих видов она представлена не одной сетью, а двумя. В одних случаях обе сети расположены в наружном слое клеток

(эктодерме), а в других в эктодерме и энтодерме (внутреннем слое клеток). Такая двойная диффузная нервная сеть, окологлоточное нервное кольцо и четкое разделение на 5-6 типов эктодермальных и энтодермальных клеток позволяют считать стрекающих достаточно совершенными организмами. Их энтодермальный слой состоит из эпителиально-мышечных клеток. Среди них есть клетки, секретирующие ферменты, слизь, обладающие подвижными жгутиками, и пищеварительно-мышечные клетки. Сходные, но морфологически неидентичные клетки расположены в эктодермальном слое. Там могут находиться интерстициальные (эмбриональные депонированные клетки, способные к пролиферации), стрекательные, эпителиально-мышечные, секретирующие слизь и даже особые сенсорные клетки (Иванова-Казас, 1974, 1978, 1995). Сенсорные клетки могут чувствовать физические воздействия на эктодерму и передавать их во внутреннюю диффузную нервную сеть.

У стрекающих развит сложный эффекторный аппарат, который управляется нервными клетками. Они могут заставлять сокращаться щупальца и тела прикрепленных актиний, дифференциально управлять работой зонтика свободноплавающих медуз, влиять на активность эпителиально-мышечных клеток энтодермы и эктодермы. У них даже можно вырабатывать непродолжительные условные рефлексы, как отмечалось выше. Следовательно, нервная система уже вполне достаточна и весьма эффективна для их образа жизни. По-видимому, ее организацию надо рассматривать как далеко не первый этап возникновения нервного аппарата многоклеточных. Скорее всего, стрекающие демонстрируют один из множества древних вариантов строения нервной системы: слишком отточены функции и совершенен их нервный субстрат. Минимальный объем нервных клеток для столь крупных организмов и их эффективность стали результатом длительного отбора и, возможно, некоторого вторичного упрощения.

Нельзя исключить, что прикрепленные стрекающие с двойной нервной сетью были свободноплавающими активными хищниками. При разделенной активности эктодермальной и энтодермальной нервных сетей возможны асинхронное свободное плавание и пищеварение. Пища, попавшая в полость тела, должна была там перемешиваться и перевариваться в результате движений пищеварительно-мышечных клеток. Если животное при этом будет плыть, а не лежать на дне, то его плавание должно осуществляться эктодермально-мышечными клетками. Они должны работать в совершенно ином режиме, нежели пищеварительная система. Двойная нервная сеть стрекающих наталкивает на

вывод о существовании подвижных хищников среди их предковых форм и возможное упрощение современных видов. У актиний строение тела намного сложнее, чем у сцифоидных или гидроидных стрекающих. Их тело имеет ряд особенностей и внутренних приспособлений как для захвата пищи, так и для ее эффективного переваривания. Внутренняя полость выстлана энтодермой, но в ней образуются выступающие складки, которые называют септами, или мезентриями. Такие мезентрии показаны на гистологических срезах. Они увеличивают площадь всасывания пищи и способствуют повышению эффективности пищеварения. Для нас важно то, что в мезентриях расположены мезоглея с нервными клетками и стрекающие книдоциты. По-видимому, это свидетельство высокой вторичной специализации группы.

Таким образом, нервная система у некоторых видов стрекающих вторично упрощена или весьма специализирована. Поэтому стрекающих нельзя рассматривать как образец примитивности нервной системы (Lipps, Signor, 1992; Вестхайде, Ригер, 2008). Наоборот, именно к такому эффективному строению нервной системы нам надо стремиться, реконструируя эволюцию возникновения нервных клеток.

Единственной приемлемой группой для воссоздания гипотетических причин появления нервных клеток являются губки. Это прекрасные сидячие многоклеточные животные с полным отсутствием симметрии, слабым кремнеземным, известковым или белковым (коллагеновым) скелетом и внутренней камерой (атриум) с входными порами (остии) и одним выводным отверстием (оскулум). Губки — водные фильтраторы с простейшими клеточными приспособлениями для протока воды. В клеточной организации губок не нашлось места для нервных клеток, хотя определенная клеточная специализация уже возникает (рис. 4.2, а). Снаружи губки покрыты пинакосоцитами, которые могут сокращаться и деформировать тело животного. Внутри они выстланы воротничковыми клетками — хоаноцитами, которые обеспечивают ток воды через пороциты и захват пищевых частиц. Между этими двумя слоями расположен мезохил — студенистое вещество белковой природы. В нем активны амебоциты, универсальные клетки, которые секретируют коллаген, мезохил, фагоцитируют пищу и могут трансформироваться в любой другой тип клеток. Все слои клеток достаточно условны, поскольку никаких базальных мембран, их подстилающих, нет. В связи с этим губки являются достойным объектом для эволюционных фантазий.

Допустим, что донервное многоклеточное существо было отдаленно похоже на современную губку с простейшей асconoидной организа-

цией (рис. 4.2, а). Пища и вода поступают во внутреннюю камеру через остии, захватываются воротничковыми клетками, а незахваченные частицы выводятся через оскулум. Часть пищевых частиц попадает амебодным клеткам. Эти частички передаются другим клеткам — пинакоцитам.

Начинать эволюционную реконструкцию появления нервных клеток с заявления о «необходимости рецептировать внешнюю среду» невозможно, так как клетки ничего о среде не знали, а вызвать в их цитоплазме «необходимость» можно только крайне вескими причинами. По-видимому, никакой связи с нервными функциями у будущих нервных клеток быть не могло. Если допустить, что нервные клетки возникли из эктодермы, а это подтверждается всем опытом эмбриологии, то надо обратить внимание на положение пинакоцитов в клеточной системе губок. Их основная функция — защита внешней поверхности губки. Для того чтобы их превратить в нервные клетки, надо ответить на несколько вопросов. Во-первых, почему изменилась морфология этих клеток — образовались отростки? Во-вторых, как они оказались в мезохиле? В-третьих, почему другие клетки стали подчиняться активности этих пронейронов?

Учитывая, что важнейшим параметром эволюции нервной системы является уровень метаболизма нервной системы, посмотрим на вопрос происхождения нервных клеток с позиции элементарного потребления пищи. Нейроны обладают метаболизмом, сопоставимым с нагруженными мышечными клетками, что требует оценки происхождения нервной ткани именно с этих позиций.

Кратко рассмотрим механизм питания губок. Вода всасывается в губку через отверстия пороцитов и попадает во внутреннюю полость — атриум (рис. 4.2, а). В атриуме находятся жгутики хоаноцитов, которые своим биением увеличивают ток воды, проходящей через губку. Хоаноциты фильтруют воду и захватывают своими микроворсинками, образующими воротничок, мелкие частицы пищи. Вокруг них, в мезоглее, находятся амебоциты, которые могут также захватывать частички пищи. В некоторых случаях эти частички даже крупнее, чем у хоаноцитов. Таким образом, хоаноциты и амебоциты являются самыми привилегированными в отношении пищи клетками. Их можно назвать первичными пищевыми. Всем остальным достается только то, что могут передать эти два типа клеток. Они делятся частичками пищи, но метаболизм остальных клеток всегда будет намного ниже, чем у них. К вторичным пищевым клеткам относятся пороциты и пинакоциты. Они

непосредственно не получают пищевых частиц из атриума и довольствуются тем, что им достается от хоаноцитов и амебоидных клеток. Именно эти различия в потреблении пищи могли привести к первичным морфологическим изменениям пинакоцитов.

Пинакоциты являются прообразом эктодермальных клеток, что отражено в названии этого слоя — пинакодерма (McConnel, 1966). По-видимому, на первом этапе пинакоциты просто стремились увеличить свой метаболизм путем удлинения отростков (рис. 4.2, б). Эти отростки доходили до амебоцитов или даже хоаноцитов, что позволяло получать большее количество пищевых частиц. Пища стала тем стимулом, который привел к изменению формы клеток покровного слоя. Следующим этапом стало увеличение размеров отростков и еще большее повышение метаболизма некоторых пинакоцитов. Они оказались в уникальном положении. Находясь на внешней поверхности тела, они получали максимум информации обо всех событиях вокруг организма. Вместе с тем, располагаясь на основных пищеварительных клетках, они получали исчерпывающую информацию об успешности питания (рис. 4.2, в). Увеличив количество отростков, пинакоциты трансформировались в пронейроны, а их тела начали погружаться в мезоглею. Инерционность биохимических процессов обусловила запоминание донервного типа. Если внешнее воздействие коррелировало с увеличением количества пищи, то такие пронейроны начинали взаимодействовать с хоаноцитами. Хоаноциты увеличивали ток воды через атриум, что приводило к увеличению потребления пищи и хоаноцитами, и пронейронами. Эта простая система позволила организмам дифференциально увеличивать активность хоаноцитов при наличии пищи и уменьшать при ее отсутствии. Биологические преимущества такой регуляции очевидны.

Затем наступил принципиальный этап интеграции отдельных пронейрональных клеток в элементарную сеть, охватывающую все тело древней губки (рис. 4.2, г). Для этого должны были произойти следующие события. Во-первых, отдельные пронейроны несколько трансформировали свое тело, оставив в пинакодерме только чувствительные отростки. Во-вторых, они сформировали контакты между собой и клетками других слоев. Причины этих событий довольно понятны. Если речь идет о пище, то любая информация, увеличивающая ее поступление, будет поддерживаться на эволюции, поэтому пронейроны могли быстро специализироваться на решении указанной проблемы. Они интегрировали работу губки-кишечнополостного по принципу пища—направленная активность. В такой информации заинтересованы не толь-

ко хоаноциты, но и пинакоциты, и амебодные клетки. Поэтому отростки образовывали не только пронейроны, но и клетки всех остальных типов. Эти отростки заканчивались на поверхности пронейронов. Через них по состоянию пронейронов другие типы клеток информировались о наличии или отсутствии пищи.

Важным этапом в эволюции стала интеграция пронейронов и пинакоцитов, способных сокращаться. Современные пинакоциты губок не утратили этой способности. Следствием такой интеграции тела губок при помощи пронейронов стало огромное пищевое преимущество нового организма. Он мог направленно изменять свое тело или перенаправлять поток воды в зоны с большим количеством пищи. Надо отметить, что такой тип интеграции нервной и моторной систем сохранился и до наших дней. Нервно-мышечный комплекс круглых червей (Nematoda) состоит из мышечных клеток, которые образуют отростки, устанавливающие связи с нервными стволами, а не наоборот. При этом формируются синаптические связи, и мышечные клетки подчиняются активности нервных стволов. Сходным образом устроен эффекторный аппарат головохордовых (Cephalochordata). У ланцетника отростки мышечных клеток проникают в нервную трубку и устанавливают синаптические контакты с нейронами. Передача управляющих мускулатурой сигналов осуществляется по отросткам мышечных клеток, а не нейронов. Следовательно, такой вариант интеграции не является умозрительной гипотезой и мог существовать у губкообразных существ с пронейрональной нервной системой.

Следовательно, метаболическими причинами было обусловлено как появление отростков, так и дифференциация нескольких типов нервных клеток. Появились специализированные чувствительные и двигательные нейроны. По-видимому, именно в этот период сформировались протонейроны, специализированные для передачи трофического сигнала от пищеварительных клеток к нейронам. Эти клетки объединили сенсорную и трофическую функцию. Следствием такой специализации стало появление протонейроглиальных клеток. Впоследствии, после появления замкнутой кровеносной системы позвоночных, они стали выполнять преимущественно барьерные и трофические функции.

Заметным моментом эволюции стало появление пронейрональной сети. Охватывая все тело, она давала возможность сопоставить пищевую информацию от разных участков тела или пороцитов, а следовательно, определить направление на пищу. Если такие животные были неподвижны, то перенаправлялся поток воды, а если они были подвижны, то появлялась возможность перемещения к источнику пищи. Не исключе-

но, что подобные пронейрональные сети появились одновременно как у свободноплавающих, так и у прикрепленных форм. Что это дало для поведения гипотетических организмов? Если даже первые пронейрональные системы возникли у малоподвижных животных, это могло быстро привести к появлению подвижных форм и активных хищников. Рассмотрим биологические выгоды от приобретения пронейронов.

Допустим, что та водная среда, где происходили описанные события, была полна губкообразными организмами без нервной системы, которые сосуществовали совместно с водной растительностью. Большая часть животных питалась фильтрацией растительных и животных остатков. По-видимому, разнообразие таких существ было крайне велико, что подтверждает палеонтологическая летопись предполагаемого периода. Маловероятно, что в такой обстановке и без нервной системы могли появиться успешные хищники. Скорее всего, автотрофные губки представляли собой довольно пассивные формы. Они почти не отличались от растений, составлявших основу биоразнообразия океана. Обилие пищи определенного типа является основным условием появления организмов новых типов. Таким ресурсом стало изобилие пассивных фильтраторов, которые намного ценнее в пищевом отношении, чем растения. Сложившиеся условия, которые представляли собой почти безграничную возможность для возникновения и эволюции хищничества (Ливанов, 1955). Приобретение минимальных способностей к сопоставлению сигналов из внешней среды с оценкой количества потребляемой пищи и способность к управлению собственным телом стали первым шагом к появлению хищников. Даже примитивная пронейрональная система могла принципиально изменить как биологию организмов, так и их эволюционное будущее. Животные, способные оценивать увеличение количества пищи внутри организма и определять направление на ее источник, стали идеальным прототипом для начала эволюции нервной системы.

Следовательно, основной причиной появления нервных клеток было стремление «голодных» клеток покровов увеличить свой метаболизм. Следствием роста отростков стала интеграция внешней и внутренней информации организма об эффективности питания. В этой информации были заинтересованы все клетки этого древнего животного, что заставило их сформировать встречающиеся отростки, направленные к пронейронам. Объединение пронейронов в сети дало огромный выигрыш в получении пищи и увеличении метаболизма животного. Организм смог не пассивно фильтровать воду, а активно находить богатые пищевые участки или поедать себе подобных. Началась конкурентная эволюция эффективно-

сти нервных систем, которая быстро превратилась в физическую битву морфологических конструкций. В кратчайшие по историческим меркам сроки были опробованы все мыслимые и немыслимые типы интегрирующих нервных систем. Они сталкивались между собой и порождали еще более оригинальные и эффективные устройства. О них мы можем судить только по фантастическим вариантам строения нервных систем низших беспозвоночных, дошедших до наших времен.

Выводы

- Любой биологический объект существует до тех пор, пока через него проходит поток энергии в виде пищи (для животных) или электромагнитного излучения в сочетании с неорганическими соединениями (для растений).

- Основная активность мозга направлена на то, чтобы получать как можно больше энергии и как можно меньше ее расходовать. Нервная система является источником быстрой реакции организма на любые изменения окружающей среды.

- Растения и животные, не имеющие нервной системы, обладают развитой чувствительностью ко всем основным типам сигналов: химическим, механическим и электромагнитным.

- При отсутствии нервной системы возможен выбор основного раздражителя. Скорость наблюдаемой реакции при выборе основного направления ответа зависит от размера организма. Простейшие реагируют быстро и очевидно, а растения медленно, что маскирует их высокую чувствительность к внешним влияниям.

- Отсутствие оперативной индивидуальной памяти у донервных организмов компенсируется генетически детерминированными реакциями или направленным морфогенезом.

- Основной биологической причиной возникновения нейронов стала низкая скорость получения информации о внешнем и внутреннем мире организма с донервной организацией. Нервная система давала огромное преимущество, которого невозможно достичь при помощи универсальных свойств неспециализированных клеток. Это увеличение скорости реакции организма на изменяющиеся внутренние и внешние условия. Как только нервная система позволила животным быстро адаптироваться к изменяющимся условиям, активно разыскивать пищу и половых партнеров, наступило время динамичной эволюции животного мира.

- В соответствии с гипотезой Гертвигов источником всех нервных клеток является первичная чувствительная клетка, возникшая из эктодер-

мы и получившая возможность воспринимать раздражения, генерировать и проводить возбуждение. Специализированные отростки этих клеток вступают в связь с независимо возникшими мышечными клетками.

- По гипотезе Клейненберга и Заварзина, нервная и мышечная системы возникли одновременно в виде образования, которое первоначально не имело дифференцированных мышечных и нервных компонентов. В дальнейшем произошла дифференциация чувствительно-сократимых клеток на чисто сенсорные и моторные, а общность их происхождения стала основой нервно-мышечных взаимодействий.

- Единственной приемлемой группой для воссоздания гипотетических причин появления нервных клеток являются губки.

- Начинать эволюционную реконструкцию появления нервных клеток с заявления о «необходимости рецептировать внешнюю среду» невозможно, так как клетки ничего о среде не знали, а вызвать в их цитоплазме «необходимость» можно только крайне вескими причинами. По-видимому, никакой связи с нервными функциями у будущих нервных клеток быть не могло.

- Важнейшим параметром эволюции нервной системы является уровень метаболизма нервной системы. Нейроны обладают метаболизмом, сопоставимым с нагруженными мышечными клетками, что требует оценки происхождения нервной ткани именно с этих позиций.

- По-видимому, нервные клетки возникли из эктодермы, что подтверждается всем опытом эмбриологии. Пробразом эктодермальных клеток являются пинакоциты клеточной системы губок. Увеличив количество отростков, пинакоциты трансформировались в пронейроны, а их тела начали погружаться в мезоглею.

- Следующие принципиальные этапы в эволюции нервной системы — интеграция отдельных пронейрональных клеток в элементарную сеть, охватывающую все тело древней губки, и интеграция пронейронов и пинакоцитов, способных сокращаться. Метаболическими причинами было обусловлено как появление отростков, так и дифференциация нескольких типов нервных клеток. Появились специализированные чувствительные и двигательные нейроны.

- Примитивная пронейрональная система могла принципиально изменить как биологию организмов, так и их эволюционное будущее. Животные, способные оценивать увеличение количества пищи внутри организма и определять направление на ее источник, стали идеальным прототипом для начала эволюции нервной системы. Началась конкурентная эволюция эффективности нервных систем, которая быстро превратилась в физическую битву морфологических конструкций.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Барнс Р., Кейлоу П., Олив П., Голдинг Д. Беспозвоночные / пер. с англ. М.: Мир, 1992.
2. Беклемишев В. Н. Основы сравнительной анатомии беспозвоночных. Т. 1. М.: Наука, 1964.
3. Вестхайде В., Ригер Р. Зоология беспозвоночных / пер. с англ. М.: Товарищество научных изданий КМК, 2008.
4. Заварзин А. А. Избранные труды. Т. 3. М.-Л.: изд-во АН СССР, 1950.
5. Иванова-Казас О. М. Морфогенетические процессы при разных типах размножения и в ходе регуляций. Л.: изд-во ЛГУ, 1974.
6. Иванова-Казас О. М. Сравнительная эмбриология беспозвоночных животных. Низшие хордовые. М.: Наука, 1978.
7. Иванова-Казас О. М. Эволюционная эмбриология животных. СПб: Наука, 1995.
8. Ливанов Н. А. Пути эволюции животного мира. М.: Сов. наука, 1955.
9. Савельев С. В. Введение в зоопсихологию. М.: Арча-17, 1998.
10. Савельев С. В. Сравнительная анатомия нервной системы позвоночных. М.: Гэотар-мед, 2001.
11. Савельев С. В. Происхождение мозга. М.: Веди, 2005.

Дополнительная

1. Barbanera F., Erra F., Banchetti R. Non-Adaptive Behaviour of Isotropically Heated, Inert Populations of *Oxytricha bifaria* (Ciliophora, Stichotrichia) // J. Eukaryot. Microbiol. 2002. Vol. 49, № 1. P. 54-62.
2. Bream J., Davis R.M. Rain, wind- and touch-induced expression of calmodulin and calmodulin-related genes in *Arabidopsis* // Cell. 1990. Vol. 60. P. 352-364.
3. Hertwig O. Das Nervensystem und die Sinnesorgane der Medusen. Leipzig: Verlag von F.C.W. Vogel, 1878.
4. Iftode F., Prajer M., Frankel J. Nuclear and Cortical Regulation in Doublets of *Paramecium*: II. When and How do Two Cortical Domains Reorganize to One? // J. Eukaryot. Microbiol. 2001. Vol. 48, № 6. P. 690-712.
5. Kühlenbeck H. Invertebrates and Origin of Vertebrates. Geneva: Karger Press, 1967.
6. Lipps J. H., Signor W. Origin and early evolution of the Metazoa. N. Y.: Plenum Press, 1992.
7. McConnel J. V. Comparative physiology: Learning in invertebrates // Annu. Rev. Physiol. 1966. Vol. 28. P. 107-136.
8. Meglitsch P. A., Schram F. R. Invertebrate zoology. Lond.: Oxford Univ. Press, 1991.

**Раздел III. ОБРАБОТКА СИГНАЛОВ
В НЕЙРОНЕ, НЕЙРОПЛАСТИЧНОСТЬ
И ПАМЯТЬ**

Глава 5. МЕМБРАННАЯ НЕЙРОРЕЦЕПЦИЯ

В основе функционального взаимодействия между нейронами лежат механизмы генерации потенциалов в мембранах нейронов и их отростков. Эти потенциалы обусловлены ионными токами, которые возникают в результате перемещения через мембрану нейронов катионов (Na^+ , K^+ и Ca^{2+}) и анионов (Cl^-) по их концентрационным градиентам. Эти ионы проходят через мембрану через специализированные белковые образования — ионные каналы.

5.1. Механизмы, управляющие состоянием ионных каналов

Каждый канал, представляющий собой белок, характеризуется двумя или более относительно стабильными конформационными состояниями. Каждое из этих состояний рассматривают как функциональное состояние. Например, каждый канал имеет, по крайней мере, одно открытое и одно (или два) закрытых состояний. Механизм переключения между этими состояниями каналов предположительно состоит в изменении конформации канального белка. Например, при электронно- и криомикроскопическом исследовании плотных межклеточных контактов показано, что открывание ионных каналов состоит в согласованном скручивании и изменении наклона шести белковых субъединиц, образующих ионный канал (рис. 5.1). В активном состоянии ионный канал открыт и способен пропускать ионы, а в неактивном состоянии закрыт и не способен пропускать ионы.

Ионные каналы подразделяют на несколько основных групп в зависимости от механизма их активации (инактивации):

— лиганд-активируемые (хемозависимые) каналы открываются при конформационном взаимодействии молекулы лиганда (медиатора или модулятора) с рецепторной частью канала;

— каналы, активируемые фосфорилированием (или дефосфорилированием) и инактивируемые дефосфорилированием (или фосфорилированием);

— каналы, напрямую активируемые ГТФ-связывающими белками (G-белками), открываются в результате связывания с димером из $\beta\gamma$ -субъединиц G-белков;

— каналы, напрямую активируемые (инактивируемые) циклическими нуклеотидами (цАМФ и цГМФ);

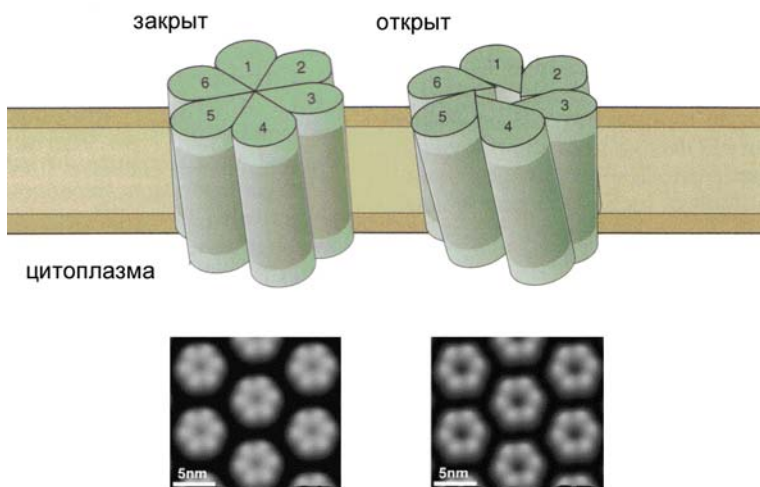


Рис. 5.1. Ионный канал, формирующий плотный межклеточный контакт, состоит из шести белковых субъединиц. Открытие ионного канала заключается в согласованном скручивании и изменении наклона субъединиц канала. Внизу — изображение закрытых и открытых каналов, полученных методом крио-микроскопии.

— потенциал-активируемые (потенциал-зависимые) каналы открываются в результате воздействия электрического поля на активационные ворота — часть белковой молекулы канала, имеющую дипольную природу;

— каналы, активируемые растяжением или сжатием участка клеточной мембраны, прилежащего к каналу;

— и некоторые другие.

В неактивном состоянии канал может быть закрыт или инактивирован, причем такие состояния управляются отдельными механизмами. Химическая синаптическая передача обеспечивается первыми четырьмя группами каналов.

5.2. Мембранные рецепторы

Мембранные рецепторы могут быть локализованы на пресинаптической и постсинаптической мембранах. Пресинаптические рецепторы реагируют на медиатор, который выделяется из этих же аксонных терминалей, обеспечивая так называемую ауторегуляцию, заключающуюся

ся в модуляции процесса экзоцитоза медиатора из везикул по принципу положительной или отрицательной обратной связи. Другими словами, высвобождаемый из терминали медиатор воздействует на собственные же пресинаптические рецепторы, уменьшая или увеличивая его последующее высвобождение.

Мембранные рецепторы могут выполнять функции гетерорецепторов. Гетерорецепторы локализуются на пресинаптических мембранах, при этом из этих терминалей выделяется медиатор, к которому данный рецептор нечувствителен. Эти рецепторы реагируют на другие медиаторы, которые выделяются из соседних клеток, и модулируют выделение медиатора из пресинаптической терминали, на которой они локализованы. Такая модуляция заключается во влиянии на возбудимость нервных окончаний, биосинтез медиаторов, вход Ca^{2+} , стадии экзоцитоза. Функционально такие рецепторы осуществляют пресинаптическую модуляцию.

5.2.1. Рецепторы прямой синаптической передачи

Лиганд-активируемые каналы состоят из двух функциональных частей: собственно канала (ионной поры) и рецептора, связывающегося с лигандом (медиатором). Эти функциональные части интегрированы в одну белковую молекулу. Следует отметить, что лиганд-активируемые каналы предпочтительнее называть рецепторами (или рецепторно-канальными комплексами), так как их свойства зависят в первую очередь от связывания лигандов, а не от специфических свойств собственно канала. Рецептор, который интегрирован с ионным каналом в одной белковой молекуле, называют ионотропным. Такие рецепторы обеспечивают так называемую прямую синаптическую передачу, при которой лиганд, связываясь с рецептором, напрямую вызывает постсинаптический эффект в течение нескольких миллисекунд (рис. 5.2). Ионные каналы, управляемые такими рецепторами, обычно высокоселективны к одному или более ионам (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} или Cl^-). Такие каналы дополнительно модулируются аллостерическими лигандами, блокаторами проводимости, ионами или мембранным потенциалом.

Ионотропные рецепторы характеризуются высокой степенью гомологии кодирующих их генов последовательностей. По химическому строению эти рецепторы подразделяют на три подсемейства: Cys-loop рецепторы (с цистеин-петлей), ионотропные глутаматные рецепторы и АТФ-управляемые каналы (табл. 5.1).

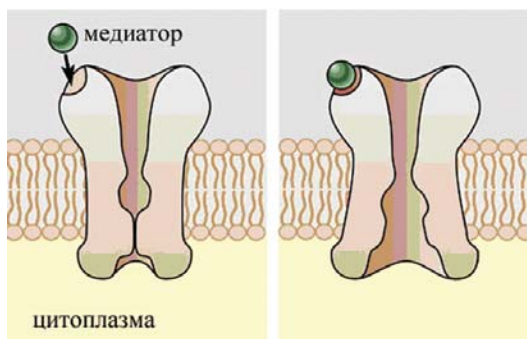


Рис. 5.2. Прямое действие медиаторов (прямая синаптическая передача) на лиганд-активируемые ионные каналы. Медиатор связывается с рецепторной частью канала и напрямую открывает его.

Таблица 5.1

Ионотропные рецепторы. Рецепторы называют по агонисту, который их активирует. В скобках указано число идентифицированных разновидностей субъединиц рецепторов для данного медиатора. Число разновидностей субъединиц рецепторов может различаться в различных литературных источниках

Подсемейство рецепторов	Лиганд (медиатор)	Рецептор(ы)
Cys-loop	ацетилхолин	никотиновые (58)
	серотонин	5-HT ₃ (1)
	ГАМК	ГАМК _A , ГАМК _C (13, 27*)
	глицин	стрихнинные (7)
ионотропные глутаматные	глутамат	NMDA, каиновые, AMPA (11)
АТФ-управляемые	АТФ	P2X (7)

* — число субъединиц рецепторов для комедиатора ГАМК-бензодиазепина.

5.2.2. Рецепторы непрямо́й синаптической передачи

Лиганд-активируемый рецептор может представлять собой отдельный белок, встроенный в мембрану и пространственно разделенный с ионным каналом. Синаптический эффект таких рецепторов состоит в инициации метаболических каскадов, управляющих состоянием ионных каналов. Эти рецепторы вызывают эффекты посредством взаимодействия

с ГТФ-связывающими белками (G-белками) (рис. 5.3). Рисунок отражает общую схему непрямого синаптического взаимодействия, так как существует большое многообразие механизмов, управляющих состоянием канала. В некоторых случаях не прямые механизмы модулируют эффективность прямой синаптической передачи (процесс нейромодуляции).

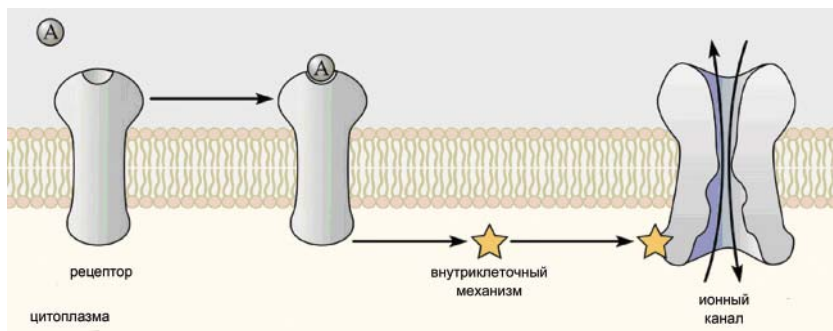


Рис. 5.3. Непрямое действие медиаторов (непрямая синаптическая передача). Агонист (А) связывается с метаботропным рецептором, который активирует различные механизмы внутриклеточных путей сигнализации, управляющих состоянием ионных каналов.

В настоящее время идентифицировано более тысячи метаботропных рецепторов, которые активируются классическими медиаторами. По гомологии кодирующих генных последовательностей среди метаботропных рецепторов выделяют три подсемейства: родопсинподобные, секретинподобные и метаботропные глутаматные рецепторы (табл. 5.2). Существуют метаботропные рецепторы, которые активируются светом, одорантами, а также протеазами. Описано несколько способов связывания лиганда, приводящих к одинаковому изменению структуры трансмембранной части рецептора. Петли молекулы рецептора, обращенные в цитоплазму, и примембранная карбоксильная группа участвуют в связывании и активации G-белков, а также в регуляции состояния рецептора (рис. 5.4).

5.3. Структура и функции G-белков

G-белки, способные связываться с гуаниновыми нуклеотидами, являются тримерами, состоящими из трех субъединиц — α , β и γ . Существует большое количество разновидностей каждой из субъединиц (20 α , 6 β и 12 γ), что создает основу для большого количества их комбинаций.

Некоторые метаботропные рецепторы.
Рецепторы называют по агонисту, который их активирует

Подсемейство рецепторов	Лиганд (медиатор)	Рецептор(ы)
родопсинподобные	ацетилхолин	мускариновые (mAChR ₁₋₅)
	норадреналин (адреналин)	$\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2, \beta_3$
	дофамин	D ₁ , D _{2Sb, 2Lb} , D ₃ , D ₄ (18 подтипов), D ₅ , D ₆ , D ₇
	аденозин, АТФ	аденозиновые (A ₁ , A _{2a} , A _{2b} , A ₃), АТФ-чувствительные (P2Y)
	серотонин	5-HT ₁ (A, B, D, E, F), 5-HT ₂ (A, B, C), 5-HT ₄ , 5-HT ₅ , 5-HT ₆ , 5-HT ₇
	гистамин	H ₁₋₄
секретинподобные	некоторые пептиды и гормоны (например, глюкагон)	глюкагоновые (GR, GIPR, GLP1R, GLP2R)
метаботропные глутаматные	глутамат	mGluR ₁₋₈
	ГАМК	ГАМК _B

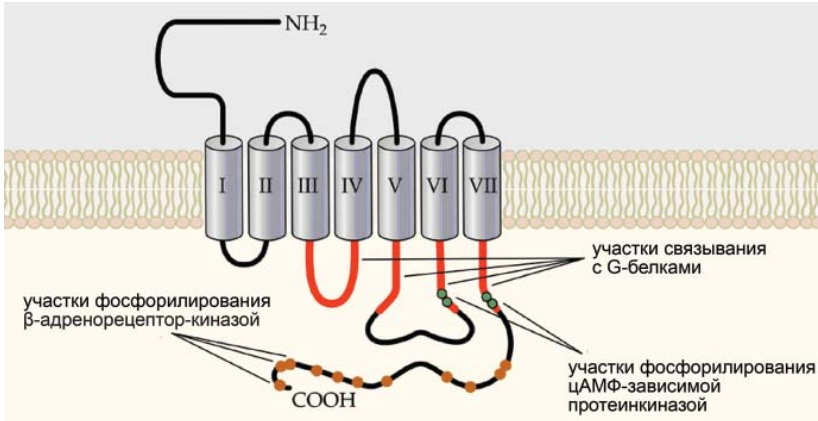


Рис. 5.4. Структура метаботропного рецептора. Фосфорилирование нескольких оснований на третьей цитоплазматической петле и на карбоксильном конце (например, цАМФ-зависимой протеинкиназой) вызывает десенситизацию рецептора. Фосфорилирование карбоксильного конца (например, β -адренорецептор-киназой) также приводит к десенситизации рецептора.

G-белки подразделяют на пять основных групп по структуре и мишеням их α -субъединиц:

- G_s стимулирует аденилатциклазу (гуанилатциклазу);
- G_i ингибирует аденилатциклазу (гуанилатциклазу);
- $G_{q/11}$ (или G_q) связывается с фосфолипазой C;
- G_o ингибирует потенциалзависимые Ca^{2+} - и K^+ -каналы;
- $G_{12/13}$ не участвует в процессах внутриклеточной сигнализации, имеющих отношение к непрямой синаптической передаче.

Семейство G_i -белков включает G_i (трансдуктин), который активирует фосфодиэстеразу цГМФ в фоторецепторах сетчатки, G-белок густодуцин (передатчик вкуса), который активирует фосфодиэстеразу цАМФ в мембранах вкусовых рецепторных клеток, а также две изоформы G_o , которые связываются с ионными каналами. Каждый G-белок может взаимодействовать с несколькими эффекторами, а разные G-белки могут модулировать активность одних и тех же ионных каналов.

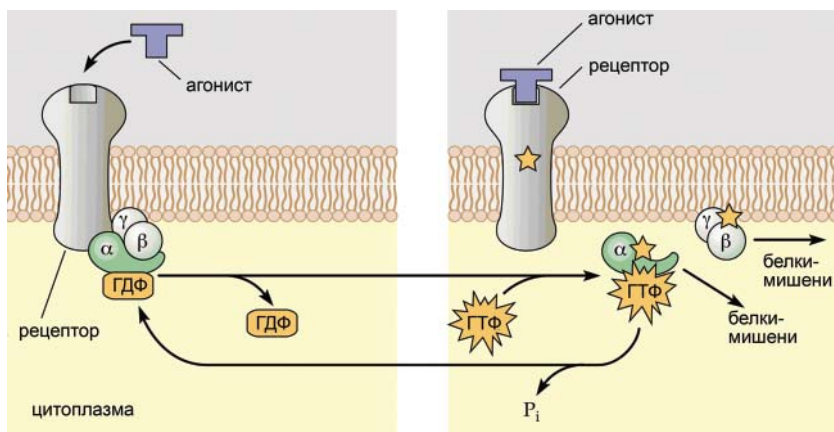


Рис. 5.5. Активация метаботропного рецептора при связывании с агонистом вызывает замену ГДФ на ГТФ на α -субъединице. Это приводит к диссоциации субъединиц и активации α -субъединицы и $\beta\gamma$ -комплекса, которые независимо взаимодействуют с различными белками-мишенями. Гидролиз ГТФ α -субъединицы до ГДФ приводит к обратному связыванию всех трех субъединиц в неактивный комплекс.

В неактивированном состоянии гуанозиндифосфат (ГДФ) связан с α -субъединицей, и все три субъединицы объединены в тример. При взаимодействии с активированным мембранным рецептором ГДФ на α -субъединице замещается на гуанозинтрифосфат (ГТФ), что приводит

к диссоциации α - и $\beta\gamma$ -субъединиц (в физиологических условиях β - и γ -субъединицы остаются связанными) (рис. 5.5). Отдельные α - и $\beta\gamma$ -субъединицы связываются с белками-мишенями и модулируют их активность. Свободная α -субъединица обладает ГТФазной активностью, вызывая гидролиз ГТФ с образованием ГДФ. В результате α - и $\beta\gamma$ -субъединицы вновь связываются, что приводит к прекращению их активности. Время жизни активированных субъединиц G-белка модулируется белками, активирующими ГТФазную активность α -субъединицы.

G-белки регулируют несколько K^+ -, Na^+ - и Ca^{2+} -каналов, взаимодействуя с несколькими десятками различных рецепторов. G-белки опосредуют взаимодействие рецепторов с ионными каналами либо напрямую, либо с вовлечением вторичных посредников.

5.3.1. Прямая модуляция активности ионных каналов G-белками

При активации мускаринового ацетилхолинового рецептора в кардиомиоцитах происходит диссоциация G-белка. $\beta\gamma$ -субъединица напрямую связывается с K^+ -каналом и открывает его, в результате чего выходящий ток катионов вызывает гиперполяризацию клетки (рис. 5.6). В специальных экспериментах методом локальной фиксации пэтч-кламп (англ., patch clamp) на кардиомиоцитах показано, что при аппликации $\beta\gamma$ -субъединицы с внутренней стороны мембраны происходит открытие K^+ -канала.

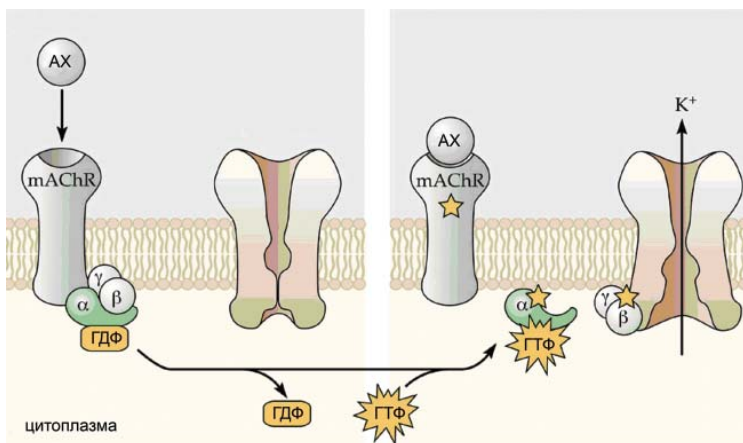


Рис. 5.6. Прямое взаимодействие G-белков и ионных каналов. При активации ацетилхолином (АХ) мускаринового ацетилхолинового рецептора (mAChR) происходит диссоциация G-белка. $\beta\gamma$ -субъединица напрямую открывает K^+ -каналы.

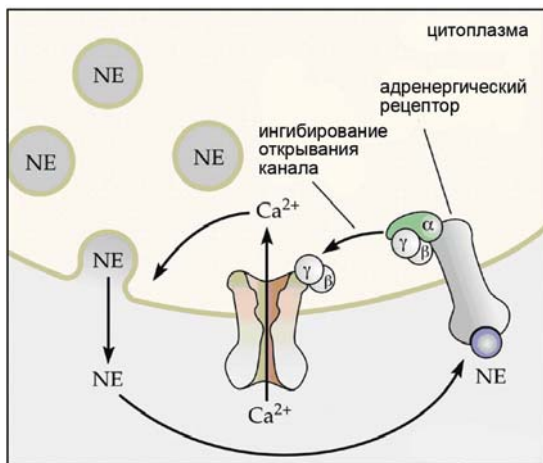


Рис. 5.7. Прямое взаимодействие G-белков и ионных каналов. Выделяясь из аксонной терминали, норадреналин (NE) связывается с пресинаптическими ауторецепторами. В результате диссоциации G-белка $\beta\gamma$ -субъединица напрямую действует на Ca²⁺-канал N-типа, снижая вероятность его открытия.

Прямое взаимодействие G-белков и ионных каналов показано в механизме ауторегуляции выделения норадреналина из нейронов симпатического ганглия лягушки. Выделяясь из аксонной терминали, норадреналин связывается со специальными пресинаптическими ауторецепторами. В результате диссоциации G-белка $\beta\gamma$ -субъединица напрямую действует на Ca²⁺-канал N-типа, снижая вероятность его открытия (рис. 5.7). Уменьшение Ca²⁺-тока в пресинаптическую терминаль приводит к уменьшению выделения медиатора.

5.3.2. Активация G-белками внутриклеточных метаболических каскадов

Общая схема внутриклеточных метаболических каскадов с участием G-белков состоит из следующих этапов (табл. 5.3):

1) В результате активации рецептора ГДФ на α -субъединице G-белка (передатчик) замещается на ГТФ, что приводит к диссоциации α - и $\beta\gamma$ -субъединиц.

2) Различные типы активированной α -субъединицы взаимодействуют с рядом первичных эфферторов — ферментов (циклазы, фосфолипазы и др.). В результате взаимодействия α -субъединица может либо активировать ферменты, что приводит к синтезу вторичных по-

средников, либо ингибировать ферменты, прекращая синтез вторичных посредников.

Таблица 5.3

Общая схема внутриклеточных метаболических каскадов с участием G-белков. Знак «-» означает отсутствие сведений

	системы			
	цАМФ	фосфоинозитол	арахидоновая кислота	цГМФ
медиатор (рецептор)	норадреналин ($\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$) ацетилхолин (M2)	норадреналин ($\alpha 1$)	гистамин (H1)	-
передатчик (рецептор)	G_s ($\beta 1$, $\beta 2$), G_i ($\alpha 2$, M2)	G_q	-	-
первичный эффектор	аденилат-циклаза	фосфолипаза C	фосфолипаза A	гуанилат-циклаза
вторичный посредник	цАМФ (циклический аденозин монофосфат)	ИФ ₃ (инозитол 1,4,5-трифосфат) и ДАГ (диацилглицерол) из фосфатидинозитол 4,5-дифосфата	арахидоновая кислота	цГМФ (циклический гуанозин монофосфат)
вторичный эффектор	протеинкиназа A	высвобождение Ca^{2+} из внутриклеточных депо, протеинкиназа C	5-липоксигеназа, 12-липоксигеназа, циклоксигеназа	протеинкиназа G

3) Вторичные посредники активируют различные белки-мишени (вторичные эффекторы) — протеинкиназы, липоксигеназы и др., воздействуя на их регуляторные субъединицы.

4) Каталические субъединицы различных белков-мишеней вызывают дальнейшие эффекты. Например, протеинкиназы фосфорилируют каналы белки, что приводит к открытию ионных каналов.

5) Посредники следующего уровня либо активируют различные третичные эффекторы, либо влияют на ионную проводимость в мембранах, в том числе и в мембранах клеточных органелл.

Следующие примеры демонстрируют метаболические пути внутриклеточной сигнализации с участием некоторых вторичных посредников.

5.3.2.1. Активация Ca^{2+} -каналов β -адренорецепторами

Методом регистрации одиночных каналов (пэтч кламп) в кардиомиоцитах показано, что при стимуляции β -адренорецепторов норадреналином увеличивается активность кальциевых каналов. Это приводит к учащению сердцебиения и усилению сокращения сердечной мышцы.

Связывание норадреналина с β -адренорецептором приводит к активации G_s -белка, в результате чего последний диссоциирует на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы (рис. 5.8). Обе субъединицы связываются с аденилатциклазой, активируя ее. Аденилатциклаза превращает АТФ в цАМФ, который в свою очередь активирует цАМФ-зависимую протеинкиназу. Протеинкиназа переносит фосфат с АТФ на потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы, модулируя их активность. Модуляция заключается в возможности активации Ca^{2+} -канала при деполяризации мембраны внешним сигналом. Потенциал-зависимый Ca^{2+} -канал в фосфорилированном состоянии приобретает свойство такой активации. Дефосфорилирование канала протеинфосфатазой переводит его в неактивное состояние.

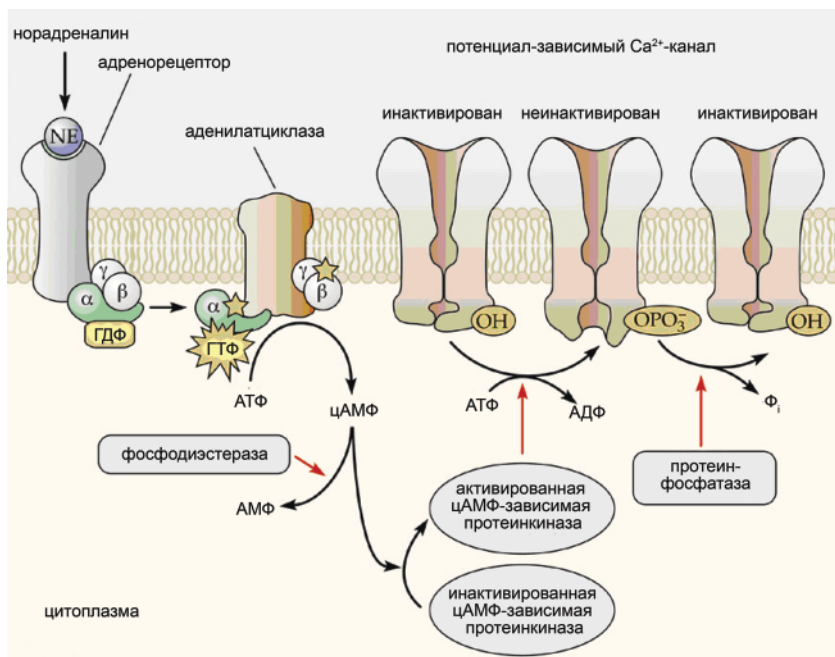


Рис. 5.8. Регуляция адренорецептором состояния Ca^{2+} -каналов в кардиомиоцитах. Связывание норадреналина (NE) с β -адренорецептором приводит к активации G_s -белка, который диссоциирует на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы. Обе субъединицы связываются с аденилатциклазой, активируя ее. Аденилатциклаза продуцирует цАМФ, которая активирует цАМФ-зависимую протеинкиназу. Протеинкиназа фосфорилирует потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы, устрняя их инактивацию.

5.3.2.2. Активация фосфолипазы C

Некоторые медиаторы (например, норадреналин) через G-белки активируют цепи внутриклеточной сигнализации с участием внутриклеточных липидов в роли вторичных посредников. Связывание норадреналина с рецептором активирует G-белок, что приводит к активации фосфолипазы C (рис. 5.9). Этот фермент гидролизует мембранный липид фосфатидилинозитол 4,5-дифосфат с образованием двух вторичных посредников — инозитол 1,4,5-трифосфата (ИФ₃) и диацилглицерола (ДАГ). ИФ₃ из мембраны проникает в цитоплазму и вызывает высвобождение Ca²⁺ из внутриклеточных цистерн эндоплазматического ретикулума.

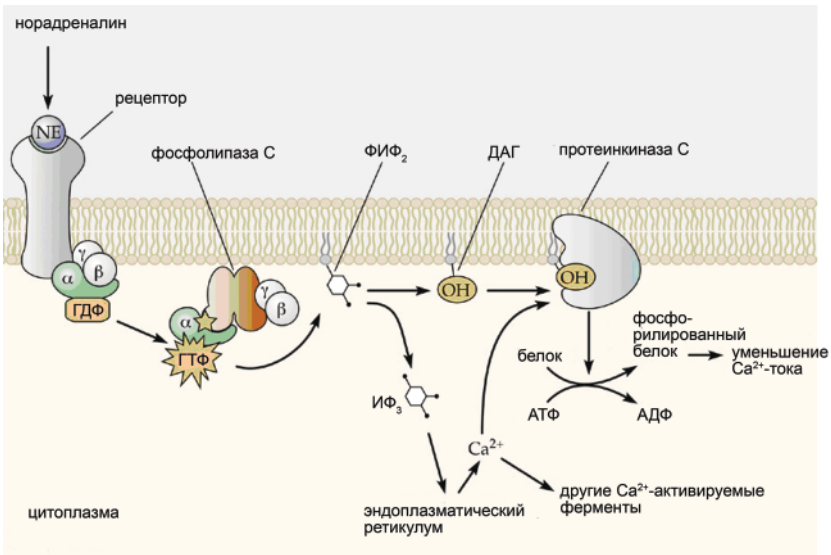


Рис. 5.9. Норадреналин (NE) активирует цепи внутриклеточной сигнализации с участием внутриклеточных липидов в роли вторичных посредников. Норадреналин, связываясь с рецептором, через G-белок активирует фосфолипазу C, которая гидролизует фосфатидилинозитол 4,5-дифосфат (ФИФ₂) с образованием двух вторичных посредников — ИФ₃ и ДАГ. ИФ₃, связываясь со своими рецепторами на мембранах эндоплазматического ретикулума, вызывает высвобождение Ca²⁺ из внутриклеточных депо в цитоплазму. Увеличение концентрации внутриклеточного Ca²⁺ активирует протеинкиназу C. ДАГ также активирует протеинкиназу C.

Увеличение концентрации внутриклеточного Ca²⁺ способствует активации протеинкиназы C. ДАГ из-за липофильных свойств остается

на внутренней стороне клеточной мембраны, где также активирует протеинкиназу С. Протеинкиназа С фосфорилирует ряд внутриклеточных белков, которые в конечном итоге приводят к уменьшению Ca^{2+} -тока в нейронах.

5.3.2.3. Активации фосфолипазы A_2

Некоторые нейропептиды через G-белки активируют фосфолипазу A_2 , которая из мембранных липидов синтезирует арахидоновую кислоту (рис. 5.10). Арахидоновая кислота действует на ионные каналы, активируя протеинкиназу С. Рядом ферментов (липоксигеназ, циклооксигеназ) арахидоновая кислота преобразуется в несколько своих производных — лейкотриены и две НРЕТЕ (Hydro-Пероку-Еикоба-Tetra-Enoic Acid), которые являются третичными посредниками. Эти производные оказывают специфические физиологические эффекты. Например, 12-НРЕТЕ связывается с K^+ -каналами, увеличивая вероятность их открытия.

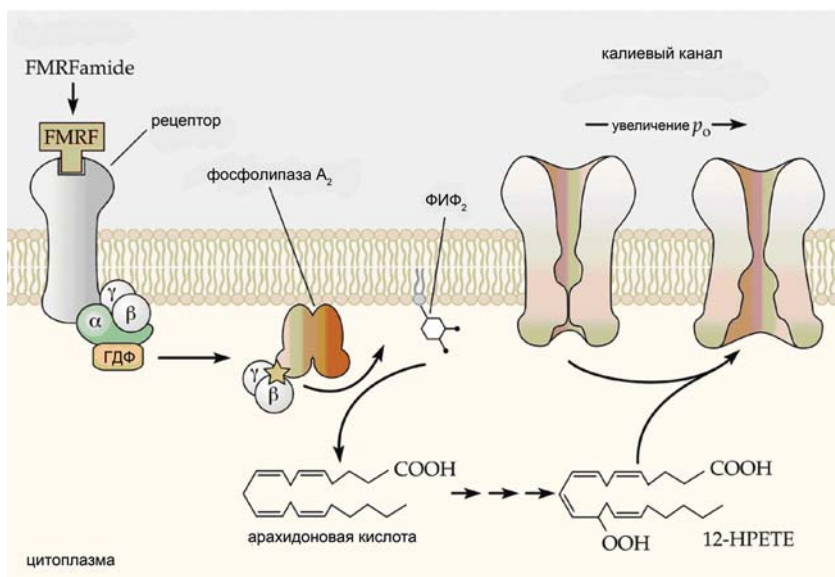


Рис. 5.10. Некоторые нейропептиды (например, FMRamide) через G-белки активируют фосфолипазу A_2 , которая из мембранных липидов синтезирует арахидоновую кислоту. Рядом ферментов арахидоновая кислота преобразуется в несколько своих производных, например, в 12-НРЕТЕ, который является третичным посредником. 12-НРЕТЕ связывается с K^+ -каналами, увеличивая вероятность (p_o) их открытия.

5.3.3. Сигнализация через NO и CO

Оксид азота (NO) в нейронах образуется из аргинина под действием фермента NO-синтазы. NO впервые был описан как регулятор кровяного давления. В эндотелиальных клетках сосудов NO-синтаза активируется комплексом Ca^{2+} /калмодулин (Ca^{2+} выполняет роль вторичного посредника). Синтезированный NO диффундирует в гладкомышечные клетки и активирует гуанилатциклазу, что приводит к синтезу цГМФ. В свою очередь цГМФ активирует цГМФ-зависимую протеинкиназу. Фосфорилирование белков приводит к открытию K^+ -каналов, а также к запуску Ca^{2+} -насосов, что приводит к гиперполяризации мышечных клеток и их расслаблению.

В мозге NO-синтаза активируется также комплексом Ca^{2+} /калмодулин, при этом Ca^{2+} поступает в цитоплазму нейрона через активированные NMDA-рецепторы. Основным эффектом NO в нейронах является активация гуанилатциклазы, что в конечном итоге приводит к разнообразным синаптическим взаимодействиям.

Свойства монооксида углерода (CO) схожи со свойствами NO. CO продуцируется в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов оксигеназой гемма, которая активируется при фосфорилировании протеинкиназой C. Так же, как и NO, легко растворимый в воде и липидах, CO диффундирует в ближайшие гладкомышечные клетки и стимулирует образование цГМФ, что приводит к расслаблению гладкомышечных клеток. В мозге обнаружена специфическая форма оксигеназы гемма, что предполагает участие CO в сигнализации нейронов в нервной системе.

5.3.4. Ca^{2+} как вторичный посредник

Ca^{2+} поступает в цитоплазму клетки по разным путям: через лиганд- и потенциал активируемые каналы как из внеклеточной среды, так и из внутриклеточных органелл с участием ИФ₃. Эффекты Ca^{2+} как вторичного посредника многообразны (рис. 5.11). Внутриклеточный Ca^{2+} регулирует K^+ - и Cl^- -каналы, а также активность связанных с мембраной фосфолипаз C и A_2 . В цитоплазме Ca^{2+} активирует три основных мишени: протеинкиназу C, калмодулин и Ca^{2+} -зависимую протеазу (кальпаин). Комплекс Ca^{2+} /калмодулин активирует Ca^{2+} /калмодулин-зависимую протеинкиназу, аденилатциклазу, фосфодиэстеразу циклических нуклеотидов, протеин фосфатазу (кальцинейрин) и NO-синтазу.

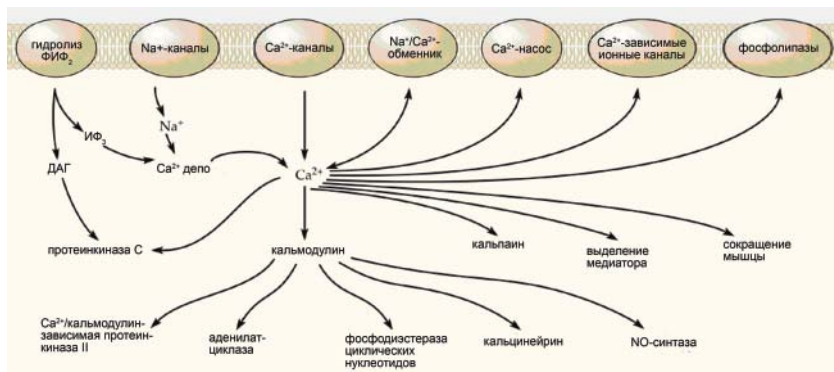


Рис. 5.11. Ca^{2+} как вторичный посредник. Внутриклеточный Ca^{2+} регулирует Ca^{2+} -зависимые K^+ - и Cl^- -каналы и активность фосфолипаз С и A_2 . В цитоплазме Ca^{2+} активирует протеинкиназу С, калмодулин и Ca^{2+} -зависимую протеазу (калыпаин). Комплекс Ca^{2+} /калмодулин активирует Ca^{2+} /калмодулин-зависимую протеинкиназу II, аденилатциклазу, фосфордиэстеразу циклических нуклеотидов, протеинфосфатазу (кальцинейрин) и NO-синтазу.

5.3.5. Некоторые киназы, активируемые через системы вторичных посредников

цАМФ-зависимая протеинкиназа (англ., cAMP-dependent protein kinase, PKA) активируется при увеличении концентрации цАМФ. Увеличение концентрации цАМФ может происходить при угнетении активности фосфодиэстеразы, которая утилизирует цАМФ.

цГМФ-зависимая протеинкиназа (англ., cGMP-dependent protein kinase, PKG) активируется при увеличении концентрации цГМФ. Увеличение концентрации цГМФ может происходить при угнетении активности фосфодиэстеразы, которая утилизирует цГМФ. Существуют две формы данной киназы: одна (PKG-I) в основном локализована в цитоплазме, другая (PKG-II) прикреплена к плазматической мембране.

Протеинкиназа С (англ., protein kinase C, PKC) активируется в присутствии Ca^{2+} , ДАГ или фосфолипида фосфатидилхолина.

Ca^{2+} /калмодулин-зависимая протеинкиназа (англ., Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase, CaM kinase) регулируется Ca^{2+} /калмодулин комплексом. Существуют две формы данной киназы: специализированные фосфорилируют миозин, вызывая сокращение мышц; многофункциональные выполняют множественные функции.

Тирозинкиназа активируется G-белками. Участвует в каскадах, обеспечивающих передачу внеклеточного сигнала в клеточное ядро, что приводит к экспрессии генов.

Все перечисленные киназы функционируют по единому механизму. Вторичные посредники действуют на регуляторные субъединицы киназ. В результате такого воздействия происходят конформационные изменения в структуре киназы, что приводит к освобождению каталитических субъединиц. Каталитические субъединицы катализируют присоединение OPO_3^- к белковым субстратам (фосфорилирование ионных каналов). Фосфорилирование канального белка обычно приводит к открытию ионного канала. Такие эффекты киназ в основном кратковременны, так как протеинфосфатазы быстро дефосфорилируют канальные белки.

5.4. Характеристика медиаторов и мембранных рецепторов

Медиаторы как вещества, обеспечивающие передачу сигнала между нейронами, должны удовлетворять ряду критериев.

Анатомический критерий: вещество должно присутствовать в необходимых количествах в пресинаптических окончаниях нейрона.

Биохимический критерий: в пресинаптическом нейроне должны быть ферментативные системы, синтезирующие вещество, а также системы, удаляющие или инактивирующие это вещество в синаптической щели.

Физиологический критерий: выделение вещества из пресинаптического нейрона при его адекватной стимуляции; идентичность эффектов, вызываемых прямым воздействием вещества на постсинаптическую клетку и адекватной стимуляцией пресинаптического нейрона.

Фармакологический критерий: фармакологические препараты, специфика действия которых известна, вызывают ожидаемые эффекты (изменение синтеза, накопления, высвобождения, инактивации, обратного захвата вещества).

Классификация медиаторов по эффекту, который они оказывают на постсинаптическую мембрану, нецелесообразна, поскольку их функция зависит от типа постсинаптического рецептора. Например, у позвоночных ацетилхолин является возбуждающим медиатором в нервно-мышечной передаче, но проявляет тормозное действие в синапсе между блуждающим нервом и сердечной мышцей (парасимпатическая система). У моллюсков выявлено три типа ацетилхолиновых синапсов с тремя типами рецепторов: два тормозных и один возбуждающий. Тор-

мозные эффекты различаются по ионной специфичности: один увеличивает проводимость для K^+ , другой — для Cl^- , в обоих случаях вызывая гиперполяризацию. В возбуждающем синапсе ацетилхолин увеличивает проводимость для Na^+ , вызывая деполяризацию. Двойная функция известна и для других медиаторов.

По химическому строению медиаторы подразделяют на три группы (табл. 5.4). Все амины, кроме ацетилхолина, являются моноаминами. Дофамин, адреналин и норадреналин представляют группу катехоламинов. Катехоламины и остальные моноамины объединяют в группу биогенных аминов. Большую группу, насчитывающую несколько десятков веществ, составляют нейроактивные пептиды, выполняющие разнообразные медиаторные функции в основном в различных тканях организма.

Таблица 5.4

Основные медиаторы

	Медиатор	Название на английском языке
Амины	Ацетилхолин (АцХ)	Acetylcholine, Ach
	Дофамин	Dopamine, DA
	Адреналин	Epinephrine
	Норадреналин	Norepinephrine, NE
	Серотонин	Serotonin, 5-HT
	Гистамин	Histamine
Аминокислоты	Глютамаг	Glutamate, Glu
	Гамма-амино масляная кислота (ГАМК)	GABA
	Глицин	Glycine, Gly
Пуриновые нуклеотиды	АТФ	ATP
	Аденозин	Adenosine

Один медиатор может связываться с различными рецепторами, которые вызывают различные эффекты. Такие рецепторы обычно называют по специфическому агонисту, который специфично связывается с данными рецепторами.

5.4.1. Ацетилхолин

Ацетилхолин является одним из первых изученных медиаторов. Рецепторы ацетилхолина подразделяют на *никотиновые* (ионотропные) и *мускариновые* (метаботропные).

Никотиновые рецепторы широко распространены в ЦНС, а также локализованы в нервно-мышечных синапсах скелетной мускулатуры, в синапсах α -мотонейронов на клетках Реншоу, в преганглионарных нейронах симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы. Ионные каналы, управляемые никотиновым рецептором, пропускают ионы Na^+ и K^+ (некоторые только ионы Ca^{2+}), что приводит к генерации возбуждающего постсинаптического потенциала (ВПСП) в нейронах и потенциалов концевой пластинки (ПКП) в поперечнополосатых мышечных клетках.

В настоящее время идентифицировано 17 различных субъединиц, составляющих различные модификации никотинового рецептора. По этим субъединицам рецепторы подразделяют на 4 подсемейства: два идентифицированы в нейронах ЦНС, одно — в вегетативных ганглиях и одно — в мышцах (табл. 5.5).

Таблица 5.5

Типы, локализация и функции никотиновых ацетилхолиновых рецепторов. Греческими буквами и индексами обозначены идентифицированные субъединицы рецепторного белка

Тип рецептора	Локализация	Эффект
мышечный, (α_1) $2\beta_1\delta\epsilon$ или $\alpha_1\beta_1\delta\gamma\epsilon$	нервно-мышечный синапс	ПКП в результате увеличения Na^+ - и K^+ - проводимости
ганглиогнарный, (α_1) $2(\beta_4)3$	вегетативные ганглии	ВПСП в результате увеличения Na^+ - и K^+ - проводимости
мозговой I, (α_4) $2(\beta_2)3$	ЦНС	ВПСП и пресинаптическое возбуждение в результате увеличения Na^+ - и K^+ - проводимости
мозговой II, (α_7) 5	ЦНС	ВПСП и пресинаптическое возбуждение в результате увеличения Ca^{2+} - проводимости

Три подсемейства ацетилхолиновых никотиновых рецепторов вызывают возбуждение, открывая каналы, пропускающие ионы Na^+ и K^+ . Рецепторы, локализованные на пре- и постсинаптических мембранах нейронов ЦНС, вызывают деполяризацию (возбуждение) этих

нейронов. Ацетилхолин, выделяющийся из аксонных терминалей преганглионарных нейронов симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы, вызывает возбуждение постганглионарных нейронов. В нервно-мышечном синапсе ацетилхолин, связываясь с рецепторами мышечных клеток, вызывает сокращение поперечнополосатой мускулатуры. Одна разновидность ацетилхолиновых никотиновых рецепторов, локализованных на мембранах нейронов ЦНС, вызывает возбуждение, открывая каналы, пропускающие ионы Ca^{2+} .

Таблица 5.6

Типы, локализация и функции ацетилхолиновых мускариновых рецепторов. Греческими буквами и индексами обозначены идентифицированные субъединицы рецепторного белка. Стрелками ↑ и ↓ обозначено увеличение и уменьшение проводимости, соответственно

Тип	Функции	Эффекты
M ₁	<ul style="list-style-type: none"> • ВПСП в вегетативных ганглиях • секреция из слюнных желез и желудка • В ЦНС (механизмы памяти)* 	G_q , $(G_i)^*$, $(G_s)^*$: медленный ВПСП, ↓ K^+ -проводимости
M ₂	<ul style="list-style-type: none"> • уменьшение частоты сердечных сокращений • уменьшение силы сокращений желудочков сердца • замедление проводимости импульсов в предсердно-желудочковом пучке • в ЦНС • уменьшение выброса ацетилхолина через ауторецепторы на пресинаптической мембране 	G_i : ↑ K^+ -проводимости, ↓ Ca^{2+} -проводимости
M ₃	<ul style="list-style-type: none"> • сокращение гладкой мускулатуры • увеличение активности желез внутренней и внешней секреции (например, слюнных желез и желудка) • в ЦНС • расширение кровеносных сосудов • аккомодация глаза • инициация рвоты 	G_q
M ₄	<ul style="list-style-type: none"> • усиление локомоции • в ЦНС 	G_i : ↑ K^+ -проводимости, ↓ Ca^{2+} -проводимости
M ₅	<ul style="list-style-type: none"> • в ЦНС 	G_q

* — предполагаемые функции и механизмы.

Мускариновые рецепторы также широко представлены в ЦНС, локализованы в постганглионарных нейронах парасимпатической вегетативной нервной системы, в постганглионарных симпатических нервах потовых желез (исключение для симпатической нервной системы). Мускариновые рецепторы опосредуют многочисленные постсинаптические эффекты, активируя через все известные типы G-белков метаболические каскады внутриклеточной сигнализации с участием всех известных вторичных посредников (табл. 5.6). Например, в симпатических ганглиях и желудке M_1 -рецепторы индуцируют образование ИФ₃ и ДАГ. ИФ₃ повышает концентрацию Ca^{2+} в цитозоле, а ДАГ активирует протеинкиназу С. В ЦНС и сердце M_2 -рецепторы активируют G_s -белки, которые в свою очередь активируют гуанилатциклазу и продуцируют цГМФ. В другом случае эти рецепторы активируют G_i -белки, которые подавляют аденилатциклазу, что приводит к уменьшению цАМФ.

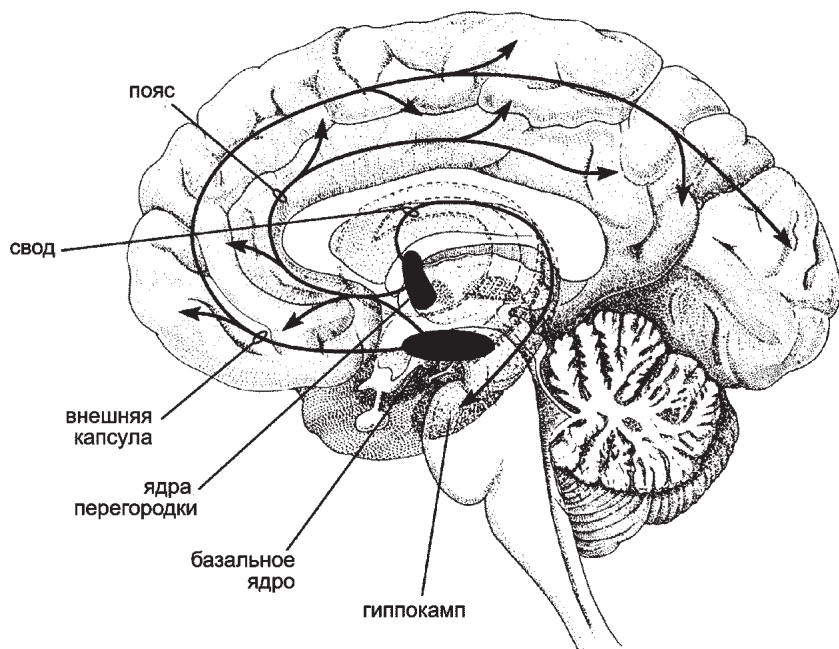


Рис. 5.12. Холинергическая иннервация в ЦНС. Холинергические аксоны нейронов медиального ядра перегородки и базального ядра (ядра Мейнерта) диффузно проецируются в кору, гиппокамп, миндалину и таламус.

Холинергические нейроны широко распространены в ЦНС. Наиболее изучена холинергическая иннервация коры больших полушарий и гиппокампа нейронами переднего мозга (например, медиального ядра перегородки) и базального ядра (ядра Мейнерта). Аксонные терминалы этих нейронов диффузно проецируются в кору, гиппокамп, миндалину и таламус (рис. 5.12).

5.4.2. Биогенные амины

Биогенные амины обнаружены во всех функциональных образованиях мозга: сенсорных и моторных путях, а также в частях мозга, обеспечивающих разнообразные когнитивные функции. Однако число нейронов, выделяющих в качестве медиатора биогенные амины, относительно невелико (тысячи клеток), и в ЦНС они сосредоточены в ядрах ствола мозга, откуда аксоны этих нейронов расходятся практически во все отделы мозга. Такая широкая иннервация биогенаминсодержащими нейронами обеспечивает модуляцию синаптической передачи в различных отделах ЦНС. Биогенные амины действуют через метаботропные рецепторы (за исключением одного серотонин-чувствительного рецептора).

5.4.2.1. Катехоламины (норадреналин, адреналин и дофамин)

Предшественником катехоламинов является дигидрогксифенилаланин (ДОФА), который синтезируется из аминокислоты тирозина. Эти медиаторы синтезируются из ДОФА в результате последовательных химических превращений, обеспечиваемых ферментами декарбоксилазой (дофамин), далее гидроксилазой (норадреналин), а затем N-метилтрансферазой (адреналин).

Норадреналин и адреналин

Основным источником норадреналина в ЦНС является голубое пятно (*locus coeruleus*), расположенное ниже дна IV-го желудочка в переднебоковой части моста. Проекции этого ядра направляются в кору больших полушарий, лимбическую систему (гипоталамус, миндалину), таламус и спинной мозг (рис. 5.13). Норадренергические нейроны боковой части покрышки ствола (латеральная ретикулярная формация моста) иннервируют ряд структур базального мозга, включая гипоталамус и миндалину. Кроме того, норадренергические нейроны расположены также в продолговатом мозге и ядре одиночного тракта. В

вегетативной нервной системе норадреналин выделяется из постганглионарных симпатических нейронов, регулируя деятельность желез и гладкомышечной мускулатуры внутренних органов и сосудов. В ЦНС норадреналин является преимущественно тормозным медиатором (в коре больших полушарий), реже — возбуждающим медиатором (в гипоталамусе).

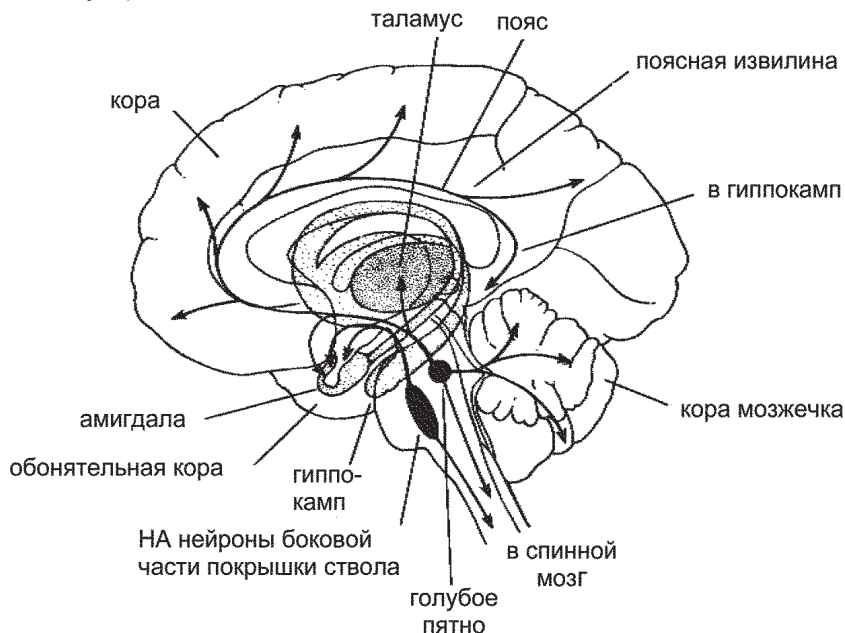


Рис. 5.13. Норадренергическая (НА) иннервация в ЦНС. Нейроны голубого пятна (*locus coeruleus*) проецируются в кору больших полушарий, лимбическую систему (гипоталамус, миндалину) и таламус. Нейроны боковой части покрывки ствола (латеральная ретикулярная формация моста) иннервируют ряд структур базального мозга, включая гипоталамус и миндалину.

Рецепторы, чувствительные к норадреналину и адреналину (α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , β_3 , все метаботропные), обеспечивают разные влияния на центральные нейроны, железы и мускулатуру внутренних органов и сосудов (таблица 5.7). Все β -рецепторы активируют, а рецептор α_2 ингибирует аденилатциклазу, регулируя концентрацию цАМФ. Рецептор α_1 через G_q -белок активирует фосфолипазу С (раздел 5.3.2.2, рис. 5.9).

Например, в результате взаимодействия норадреналина с β -рецепторами активируется G_s -белок, который активирует аденилатциклазу.

С увеличением концентрации цАМФ активируется протеинкиназа А. В зависимости от эффекта протеинкиназы А происходит учащение сердцебиения и усиление сокращений сердечной мышцы (раздел 5.3.2.1, рис. 5.8).

Таблица 5.7

Типы, агонисты, функции и эффекты адренергических рецепторов.
Стрелками ↑ и ↓ обозначено, соответственно,
увеличение и уменьшение проводимости для ионов,
концентрации вторичных посредников или активности ферментов

Тип рецептора (подтипы)	Агонисты*	Функции	Эффекты
α_1 (A, B, D)	норадреналин, адреналин, изопреналин	сокращение гладкой мускулатуры	G_q : ↑ фосфолипаза C, ↑ ИФ $_3$, ↑ Ca $^{2+}$
α_2 (A, B, C)	адреналин, норадреналин, изопреналин	сокращение гладкой мускулатуры	G_i : ↓ аденилатциклаза, ↓ цАМФ
β_1	изопреналин, норадреналин, адреналин	сокращение сердечной мышцы	G_s : ↑ аденилатциклаза, ↑ цАМФ
β_2	изопреналин, адреналин, норадреналин	расслабление гладкой мускулатуры	G_s : ↑ аденилатциклаза, ↑ цАМФ
β_3	изопреналин, норадреналин = адреналин	усиление разложения жиров	G_s : ↑ аденилатциклаза, ↑ цАМФ

* — агонисты расположены в порядке уменьшения эффективности их взаимодействия с рецептором; знак «=» означает равную эффективность агонистов.

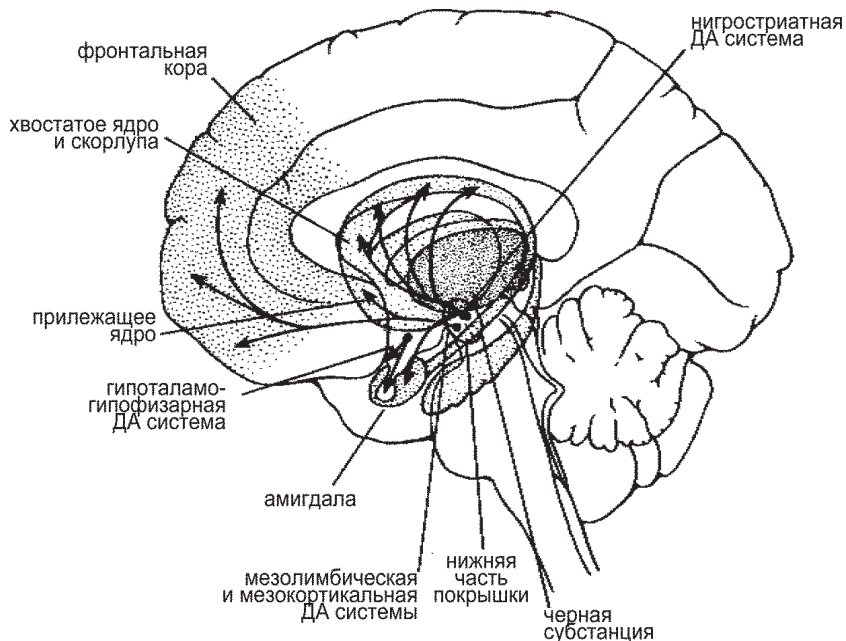
Взаимодействие α_2 -рецептора с норадреналином приводит к активации G_i -белка, который ингибирует аденилатциклазу. Уменьшение концентрации цАМФ приводит к увеличению K $^+$ -проводимости и снижению проводимости Ca $^{2+}$ -каналов.

Адреналин секретируется в мозговом слое надпочечников, диффузно выделяется в кровеносную систему и выполняет функцию гормона (модулятора). В ЦНС эффекты адреналина незначительны. Так, известно, что адреналин как медиатор выделяется в гипоталамусе, вызывая через активацию β_2 -рецепторов увеличение кровяного давления.

Дофамин

В ЦНС выделяют четыре главных дофаминергических пути: (1) nigrostriатный — от черной субстанции (**Substantia nigra**) к скор-

лупе и хвостатому ядру; (2) гипоталамо-гипофизарный (тубероинфундибулярный) — от аркуатного ядра гипоталамуса к ножке гипофиза; (3) мезолимбический — от нижней части покрышки к лимбической системе; (4) мезокортикальный — от нижней части покрышки к префронтальной области неокортекса (рис. 5.14).



5.14. Дофаминергическая (ДА) иннервация в ЦНС. Аксоны нейронов черной субстанции проецируются в стриатум (хвостатое ядро и скорлупу). Дофаминергические нейроны нижней части покрышки проецируются в лимбическую систему и фронтальную кору.

Аксоны нейронов черной субстанции проецируются в стриатум (хвостатое ядро и скорлупу), обеспечивая регуляцию произвольных движений (экстрапирамидная система). Дофаминергические нейроны нижней части покрышки проецируются в лимбическую систему и фронтальную кору, регулируя мотивационное состояние и систему подкрепления.

Дофаминовые рецепторы подразделяют на два семейства: D_1 -подобные (возбудительные) и D_2 -подобные (тормозные). Семейство D_1 -подобных рецепторов включает D_1 и D_5 типы, которые, действуя на

G_s -белки, активируют аденилатциклазу и увеличивают концентрацию цАМФ. Это приводит к увеличению Ca^{2+} -проводимости и, соответственно, к возбуждению нейронов. D_1 рецептор также активирует фосфолипазу С, что приводит к синтезу ИФ₃.

Семейство D_2 -подобных рецепторов включает два типа D_2 , D_3 и D_4 типы. D_2 и D_4 рецепторы, взаимодействуя с G_i -белками, ингибируют аденилатциклазу. Это приводит к снижению концентрации цАМФ, которая превращается из циклической в линейную форму (5'-АМФ) в результате активности фосфодиэстеразы. Снижение концентрации цАМФ производит тормозный эффект из-за уменьшения Ca^{2+} -проводимости (через потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы) и увеличения K^+ -проводимости. D_3 рецепторы активируют фосфолипазу С, обеспечивая через синтез ИФ₃ регуляцию концентрации внутриклеточного Ca^{2+} . Кроме того, эти рецепторы, локализованные на пресинаптической мембране (ауторецепторы), напрямую уменьшают Ca^{2+} -токи и, соответственно, выделение дофамина (отрицательная обратная связь).

5.4.2.2. Серотонин

Серотонин синтезируется из триптофана в две стадии. В ЦНС серотонин локализован в основном в ядрах шва. Нейроны этих ядер проецируются как в головной, так и спинной мозг.

Таблица 5.8

Типы, механизмы активации и эффекты серотониновых рецепторов.
Стрелками ↑ и ↓ обозначено, соответственно,
увеличение и уменьшение проводимости для ионов,
концентрации вторичных посредников или активности ферментов

Тип	Механизм активации	Эффект
5HT _{1A} 5HT _{1B/D} 5HT _{1D} 5ht _{1E} 5ht _{1F}	G_i	↓ цАМФ
5HT _{2A} 5HT _{2B} 5HT _{2C}	G_q	↑ ИФ ₃ , ↑ ДАГ
5HT ₃	ионотропный Na^+/K^+ -канал	↑ Na^+ , ↑ K^+ , ↑ Ca^{2+} , деполяризация
5HT ₄	G_s	↑ цАМФ
5ht ₅	G_i	↓ аденилатциклаза
5ht ₆	G_s	↑ цАМФ
5HT ₇	G_s	↑ цАМФ

Ядра шва среднего мозга и моста иннервируют обширные области переднего мозга и являются частью восходящей активирующей ретикулярной системы (рис. 5.15). Серотонин участвует в регуляции цикла сон-бодрствование. Кроме того, серотонин регулирует активность генераторов движения и дыхания, расположенных в стволе мозга и спинном мозге. Известна роль серотонина в регуляции сложных форм поведения (агрессия, социальные отношения в популяции) и когнитивных функций (процессы восприятия у человека). Аксоны нейронов ядер продолговатого мозга проецируются в спинной мозг, где серотонин модулирует передачу в проводящих путях спинного мозга, участвующих в восприятии боли.

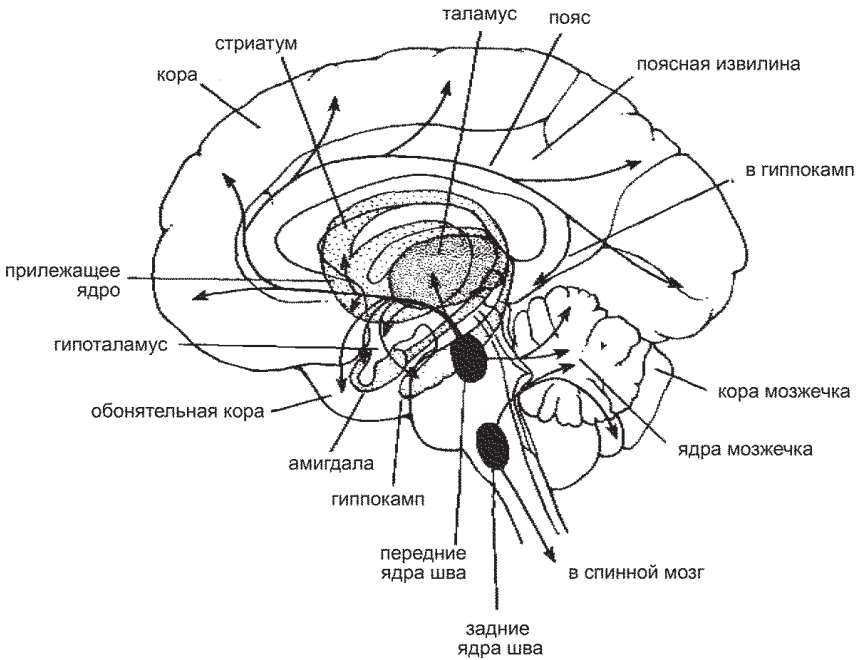


Рис. 5.15. Серотонинергическая иннервация в ЦНС. Ростральные ядра шва проецируются в большое число областей переднего мозга, каудальные — в мозжечок и спинной мозг.

Выделяют несколько типов серотониновых рецепторов, из которых только один ($5HT_3$) является ионотропным, а остальные являются метаботропными (табл. 5.8). Некоторые рецепторы идентифицированы молекулярно-генетическими методами (методом анализа ДНК и гиб-

ридизации мРНК), однако локализация их в мембранах клеток не установлена. Чтобы отличать такие рецепторы, их обозначают малыми латинскими буквами (например, $5ht_{1E}$). Серотониновые рецепторы могут быть локализованы как на пре-, так и постсинаптических мембранах, а также могут выполнять функцию гетерорецепторов.

Семейство $5HT_1$ насчитывает пять разновидностей рецепторов, однако некоторые из них не найдены в мембранах клеток ($5ht_{1E}$ и $5ht_{1F}$). Все они взаимодействуют с G_i -белком, ингибируют аденилатциклазу и снижают клеточную концентрацию цАМФ, что приводит к гиперполяризации нейронов.

Семейство $5HT_2$ насчитывает три разновидности рецепторов, которые через G_q -белок активируют фосфолипазу С с последующим синтезом ИФ₃ и ДАГ. В результате внутриклеточных каскадов в нейронах уменьшается K^+ -проводимость и увеличивается Ca^{2+} -проводимость, что приводит к деполяризации. Кроме того, эти рецепторы активируют фосфолипазу A_2 , которая в свою очередь инициирует каскады с участием арахидоновой кислоты. Первоначально рецептор $5HT_{2C}$ был классифицирован как $5HT_{1C}$, поэтому в семействе $5HT_1$ отсутствует рецептор с индексом $1C$.

Рецепторы $5HT_3$ управляют лиганд-активируемыми ионными каналами, которые пропускают Na^+ - и K^+ -токи, вызывая деполяризацию нейронов.

Рецепторы $5HT_4$ через G_s -белки активируют аденилатциклазу, увеличивают концентрацию цАМФ, что приводит к закрыванию K^+ -каналов и деполяризации клеток.

Существование рецепторов $5ht_5$ и $5ht_6$ подтверждается только молекулярногенетическими методами (анализ ДНК). Тем не менее, методом меченых антител рецепторы $5ht_5$ были найдены на мембранах глиальных клеток. Клонированные $5ht_5$ рецепторы связаны с G_i -белками и ингибируют аденилатциклазу. Методом гибридизации мРНК показано существование рецепторов $5ht_6$ в ряде структур ЦНС. Эти рецепторы через G_s -белки активируют аденилатциклазу.

Рецепторы $5HT_7$ через G_s -белки активируют аденилатциклазу. Существование этих рецепторов в таламусе, гиппокампе и гипоталамусе было доказано методом меченых антител и гибридизации мРНК.

5.4.2.3. Гистамин

Гистамин выполняет многие функции в организме по поддержанию гомеостаза и общей активации мозга. Гистамин участвует в регуляции сна, ослабляет восприятие боли, усиливает жажду, подавляет пищедобывательное поведение, повышает давление крови, снижает температуру тела и стимулирует гидролиз гликогена. В ЦНС он выделяется из

нейронов туберомамиллярных тел заднего гипоталамуса, аксоны которых диффузно проецируются практически во все отделы мозга.

Известны четыре рецептора гистамина. H_1 рецептор активирует фосфолипазу С, вызывая синтез ИФ₃. Это приводит к уменьшению K^+ -проводимости и увеличению тетродотоксин-нечувствительной Na^+ -проводимости и, соответственно, к деполяризации нейронов. H_2 рецептор через G_s -белки активирует аденилатциклазу, вызывая увеличение Ca^{2+} -тока, что в конечном итоге приводит к возбуждающим эффектам во внутренних органах (желудочно-кишечном тракте, в кровеносных и лимфатических сосудах). H_3 рецептор является ауторецептором и через G_i -белки напрямую снижает Ca^{2+} -проводимость, тем самым уменьшая выделение гистамина из пресинаптических окончаний (отрицательная обратная связь). H_3 рецептор также описан как постсинаптический рецептор в стриатуме и коре мозга. Рецептор H_4 инициирует хемотаксис тучных клеток и не задействован в цепях нейронной сигнализации.

5.4.3. Медиаторы-аминокислоты

5.4.3.1. Глутамат (L-глутаминовая кислота, глутамат)

Глутамат является наиболее распространенным возбуждающим медиатором в мозге животных, а также в нервно-мышечных синапсах ракообразных и насекомых, связываясь как с ионотропными, так и метаботропными рецепторами.

Ионотропные рецепторы глутамата

Ионотропные глутаматные рецепторы подразделяют на три типа по их чувствительности к специфическим агонистам:

— NMDA (N-метил-D-аспартат, англ. N-methyl-D-aspartate), обеспечивает Na^+ -, K^+ - и Ca^{2+} -проводимости;

— AMPA (α -амино-3-гидрокси-5-метилизоксазоле-4-пропионовая кислота, англ. α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid), обеспечивает Na^+ -, K^+ - и Ca^{2+} -проводимости;

— каиновая кислота (каинат, kainic acid), обеспечивает Na^+ - и K^+ -проводимости.

Глутамат широко распространен в ЦНС, что отчетливо показано при использовании его главных агонистов AMPA и NMDA, меченных тритием. AMPA и каиновые рецепторы объединяют в группу так называемых не-NMDA рецепторов, которые при активации глутаматом открывают Na^+/K^+ -каналы.

NMDA-рецепторы характеризуются более сложными свойствами, поскольку их проводимость зависит от уровня мембранного потенциа-

ла. При потенциале покоя (-75 мВ) NMDA-рецептор блокирован ионами Mg^{2+} . При деполяризации, возникающей при активации не-NMDA рецепторов, магниевый блок снимается, и через канал течет смешанный $Na^+/K^+/Ca^{2+}$ -ток, вызывающий более продолжительную деполяризацию. Активация NMDA-рецептора может вызвать продолжительный ток. NMDA-рецептор имеет несколько участков, взаимодействующих аллостерически (рис. 5.16):

- 1) участок связывания медиатора;
- 2) регуляторный, или коактивирующий, глициновый участок;
- 3) внутренний участок, связывающий фенциклидин;
- 4) потенциал-зависимый Mg^{2+} -связывающий участок;
- 5) тормозной участок связывания двухвалентных катионов (например, Zn^{2+}).

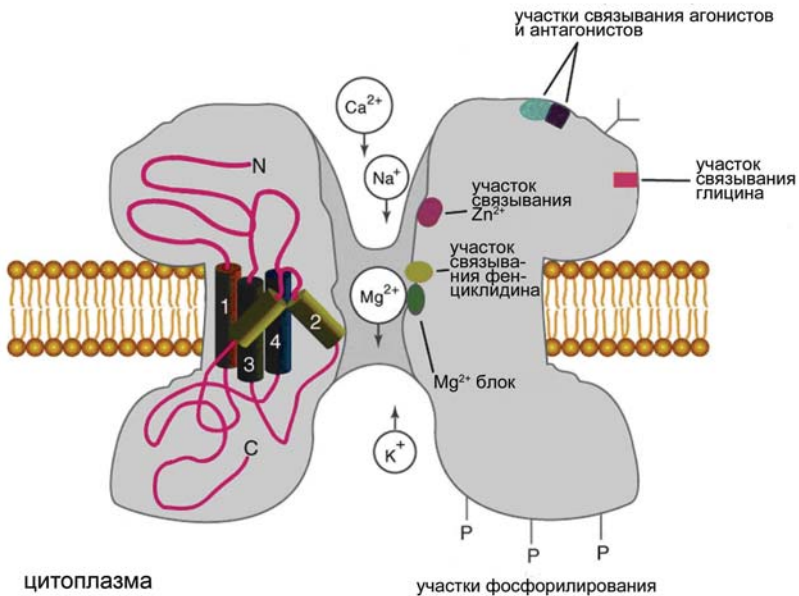


Рис. 5.16. Структура и функциональные участки NMDA-рецептора. NMDA-рецептор имеет несколько участков, взаимодействующих аллостерически: 1) участок связывания медиатора; 2) регуляторный, или коактивирующий, глициновый участок; 3) внутренний участок, связывающий фенциклидин; 4) потенциал-зависимый Mg^{2+} -связывающий участок; 5) тормозной участок связывания двухвалентных катионов (например, Zn^{2+}).

Глицин не вызывает ответа, но усиливает активацию NMDA-рецептора, увеличивая частоту открывания канала. При отсутствии глицина рецептор не активируется L-глутаматом. Наибольшие токи при активации рецептора возникают при деполяризации от -30 до -20 мВ и существенно уменьшаются при гиперполяризации или деполяризации. Ионы Mg^{2+} селективно блокируют рецептор при таких сдвигах потенциала. Ионы Zn^{2+} также ингибируют ответ рецептора, но не имеют потенциал-зависимого действия.

Метаботропные рецепторы глутамата

Четвертый тип глутаматных рецепторов представляют метаботропные рецепторы (mGluR). По химическому строению их подразделяют на три группы, включающие вместе 8 различных рецепторов, но при этом пока не найдены их специфические антагонисты, необходимые для выявления их функциональной роли. Группа I включает mGluR₁ и mGluR₅ рецепторы, которые через активацию G_q-белков активирует каскады деградации мембранных фосфолипидов с образованием ИФ₃, что в конечном итоге приводит к увеличению концентрации внутриклеточного Ca²⁺ и увеличению Na⁺/K⁺-проводимости. Рецепторы группы 2 (mGluR₂, mGluR₃) и группы 3 (mGluR₄, mGluR_{6,8}) через G_i-белки ингибируют аденилатциклазу.

5.4.3.2. Тормозные медиаторы в ЦНС — ГАМК и глицин

ГАМК (γ -аминомасляная кислота) как тормозный медиатор широко распространена в ЦНС. Например, клетки Пуркинье мозжечка выделяют из своих синапсов ГАМК, которые они образуют на нейронах ствола мозга. Тормозные интернейроны в коре мозга, выделяющие ГАМК, формируют обширные аксонные коллатерали, обеспечивая возвратное и латеральное торможение в нейронах коры. Кроме того, ГАМК обнаружена в горизонтальных и амакриновых клетках сетчатки. Нейроны, выделяющие в качестве медиатора глицин, расположены в стволе мозга и спинном мозге. Например, глицин выделяется из аксонных терминалей клеток Реншоу и вызывает торможение мотонейронов.

ГАМК рецепторы подразделяют на три типа: ГАМК_A и ГАМК_C являются ионотропными, а ГАМК_B — метаботропными. ГАМК_A, ГАМК_C и глициновый рецепторы являются лиганд-управляемыми ионными каналами, активация которых приводит к открытию Cl⁻-каналов и к гиперполяризации нейронов.

ГАМК_A рецептор

ГАМК_A рецепторы обеспечивают постсинаптическое торможение во всех отделах ЦНС. В мозге человека выделено большое число различных изоморфных субъединиц (6 α , 3 β , 3 γ , δ , ϵ , π и θ). Наиболее типичный в мозге ГАМК_A рецептор состоит из пяти субъединиц (2 α -, 2 β - и 1 γ -субъединиц, $\alpha_2\beta_2\gamma$), окружающих центральную ионную пору (рис. 5.17). При активации анионного канала две молекулы ГАМК взаимодействуют с двумя α -субъединицами рецептора. Антагонистами ГАМК_A рецептора являются биккуллин и пикротоксин, а агонистами — бензодиазепин, барбитураты, а также некоторые нейроактивные стероиды. Агонисты неконкурентно связываются с отдельными участками рецептора: бензодиазепины — с γ -субъединицей, а барбитураты — с двумя β -субъединицами.

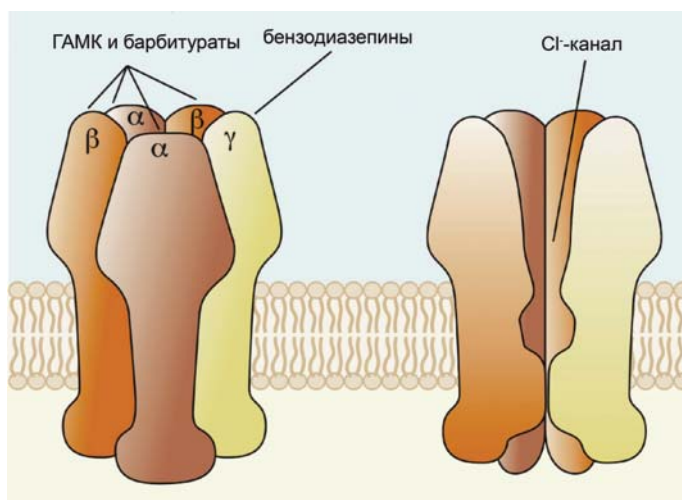


Рис. 3.17. Гипотетическая модель ГАМК_A рецептора. Рецептор состоит из пяти субъединиц (2 α -, 2 β - и 1 γ -субъединиц, $\alpha_2\beta_2\gamma$), окружающих центральную ионную пору. ГАМК связывается с α -субъединицами, барбитураты — с β -субъединицами, а бензодиазепины — с γ -субъединицей.

Все субъединицы рецептора влияют на состояние Cl⁻-канала. Так, бензодиазепины усиливают эффект ГАМК, однако при этом проводимость отдельных Cl⁻-каналов не изменяется, т.е. бензодиазепины увеличивают эффективность связывания ГАМК с рецептором и увеличивают вероятность открытия Cl⁻-каналов. Антагонисты бензодиазепинов

устраняют их дополнительный эффект, не влияя на эффект самой ГАМК. Антагонисты ГАМК существенно снижают Cl^- -проводимость, несмотря на присутствие бензодиазепинов.

В отличие от бензодиазепинов барбитураты увеличивают время открытого состояния Cl^- -канала. В больших концентрациях барбитураты активируют Cl^- -каналы даже в отсутствие ГАМК. Эффект барбитуратов сохраняется в присутствии антагонистов бензодиазепинов, что подтверждает существование специфического участка связывания для барбитуратов.

Некоторые нейроактивные стероиды действуют на ГАМК_A -рецептор подобно барбитуратам, открывая Cl^- -каналы. Предполагается, что эндогенные стероиды действуют на те же участки рецептора, что и барбитураты.

ГАМК_C рецептор

ГАМК_C рецептор нечувствителен к агонистам (аллостерическим медиаторам) ГАМК_A рецептора — к бензодиазепинам, барбитуратам и нейроактивным стероидам, а также к антагонисту ГАМК_A рецептора бикакуллину, но блокируется пикротоксином. Имеет свои специфические агонисты и антагонисты.

ГАМК_C рецептор состоит из трех изоморфных ρ -субъединиц, которые формируют три различных гомопентамера ($\rho 1_5$, $\rho 2_5$, $\rho 3_5$) или несколько гетеропентамеров ($\rho 1_m \rho 2_n$, $\rho 2_m \rho 3_n$, где $m+n=5$). ГАМК_C рецептор обнаружен на мембранах горизонтальных и биполярных клеток сетчатки позвоночных. Кроме того, этот рецептор локализован в некоторых синапсах, образованных амакриновыми клетками на пресинаптических мембранах палочковых биполяров. Активация этих рецепторов уменьшает выделение глутамата биполярами.

ГАМК_C рецептор обеспечивает меньшую Cl^- -проводимость, чем ГАМК_A рецептор, и вызываемые им Cl^- -токи медленнее затухают после удаления ГАМК.

ГАМК_B рецептор

ГАМК_B рецепторы обнаружены в ЦНС (в гиппокампе, мозжечке, коре) и вегетативной нервной системе. Большинство этих рецепторов образовано двумя субъединицами (GABA_{B1} и GABA_{B2}), они найдены как на пре-, так и на постсинаптических мембранах. Агонистом ГАМК_B рецепторов является баклофен, а антагонистами — саклофен и факлофен.

ГАМК_B рецепторы на пресинаптических мембранах блокируют потенциал-зависимые Ca²⁺-токи, уменьшая выброс различных медиаторов, в том числе и самой ГАМК.

Ca²⁺-проводимость блокируется в результате действия $\beta\gamma$ -субъединицы G-белков.

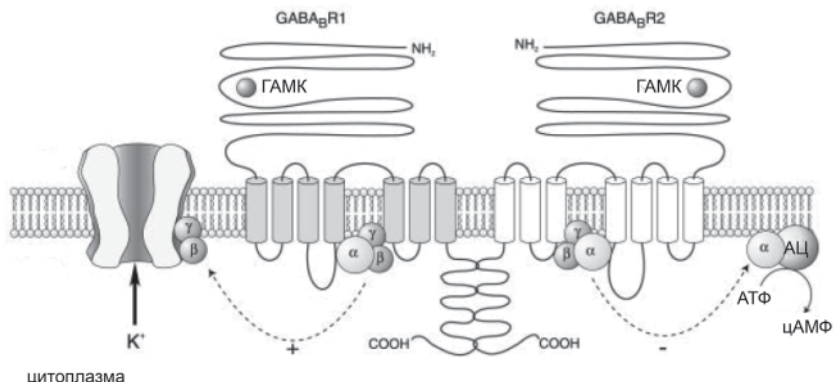


Рис. 5.18. ГАМК_B рецептор образован двумя субъединицами ГАБА_BR1 и ГАБА_BR2. В постсинаптических мембранах субъединица ГАБА_BR1 активирует G-белки, и $\beta\gamma$ -субъединица напрямую активирует K⁺-канал (слева). Субъединица ГАБА_BR2 активирует G-белки, и α -субъединица ингибирует аденилатциклазу (АЦ) (справа).

В постсинаптических мембранах ГАМК_B рецепторы активируют G-белки, $\beta\gamma$ -субъединица напрямую активирует K⁺-канал, а α -субъединица ингибирует аденилатциклазу (рис. 5.18). Увеличение K⁺-проводимости и уменьшение концентрации цАМФ в цитоплазме приводит к гиперполяризации, в чем проявляется тормозный эффект ГАМК_B рецепторов.

Глициновый рецептор

Глициновые рецепторы в основном локализованы в спинном мозге на мембранах мотонейронов. Однако они найдены также и в высших мозговых центрах, включая гиппокамп, кору и мозжечок. Агонистами этих рецепторов являются β -аланин и таурин, а антагонистами стрихнин и пикротоксин. Глициновый рецептор, типичный лиганд-активируемый ионный канал, является пентамером и состоит из трех α - и двух β -субъединиц (в спинном мозге), которые формируют ионный канал,

проницаемый для анионов Cl^- и HCO_3^- . Субъединицы глицинового рецептора отличаются от субъединиц ГАМК_A рецептора. В отличие от ГАМК_A глициновые рецепторы не чувствительны к бензодиазепинам и барбитуратам, но блокируются некоторыми стероидами.

5.4.4. Пуриновые нуклеотиды

Аденозинтрифосфат

Аденозинтрифосфат (АТФ) был обнаружен в высоких концентрациях в синаптических везикулах. Выделяясь в синаптическую щель, он демонстрирует медиаторную функцию, взаимодействуя с пуринергическими ионотропными и метаботропными рецепторами. Впервые нейромедиаторная функция АТФ была описана в гладкой мускулатуре. Пуринергические рецепторы найдены также в ЦНС и вегетативной нервной системе (вегетативных ганглиях), где они осуществляют разнообразные модуляторные воздействия. Выделяют несколько семейств АТФ-чувствительных рецепторов.

Семейство P2X рецепторов насчитывает 7 ионотропных рецепторов, вызывающих активацию различных нейронов ЦНС и клеток внутренних органов. Эти рецепторы иницируют катионную проводимость (Na^+ и Ca^{2+}), вызывая деполяризацию клеток-мишеней. В основном АТФ содержится в везикулах с другими медиаторами, например, с норадреналином в поганглионарных нейронах симпатического отдела вегетативной нервной системы. В этом случае АТФ является комедиатором норадреналина и, взаимодействуя с рецептором P2X₁, вызывает быструю деполяризацию и фазическое сокращение гладкой мускулатуры (например, кишечника и мочевого пузыря), в то время как норадреналин запускает медленное тоническое сокращение за счет освобождения Ca^{2+} из внутриклеточных депо в результате активации фосфолипазы C с последующим синтезом ИФ₃.

Семейство P2Y включает 6 метаботропных рецепторов, осуществляющих свои эффекты, главным образом, через G_q-белки (активация фосфолипазы C), реже через G_i- и G_s-белки, соответственно, ингибируя и активируя аденилатциклазу.

Медиаторная роль АТФ отчетливо показана в периферических органах и сенсорных ганглиях, однако роль АТФ как медиатора в ЦНС в настоящее время остается малоизученной. Тем не менее способность АТФ активировать через ионотропные P2X рецепторы Ca^{2+} -токи может указывать на ее роль в длительных эффектах, таких, как пластичность и нейрогенез.

Еще два семейства P2 рецепторов найдены в мембранах тромбоцитов (P2T) и тучных клеток (P2Z). Эти рецепторы не задействованы в механизмах межнейронной сигнализации.

Аденозин

Аденозин рассматривают скорее как модулятор нейронной активности, реализующий свои функции через три рецептора: A1, A2 и A3.

Через пресинаптические A1 рецепторы, ингибирующие через G_i -белки аденилатциклазу, аденозин может уменьшать синаптическое выделение ряда медиаторов, например ГАМК, что приводит к уменьшению торможения в постсинаптических нейронах.

Активируя A2-рецепторы, аденозин через G_s -белки активирует аденилатциклазу. В результате синтеза цАМФ в нейронах активируются Ca^{2+} -зависимые K^+ -каналы, что приводит к усилению следовой гиперполяризации и значительному тормозному эффекту на центральные нейроны.

Аденозиновые рецепторы A3 не задействованы в механизмах межнейронной сигнализации.

5.4.5. Пептидные медиаторы в ЦНС

Давно известно, что некоторые нейроны в мозге могут секретировать пептидные гормоны в локальное циркуляторное русло. Например, нервные клетки гипоталамуса выделяют релизинг-факторы, которые достигают эндокринных клеток передней доли гипофиза, что приводит к секреции разных гормонов в общий кровоток. Пептиды, обнаруженные сначала в энтеральной нервной системе, также широко распространены в головном и спинном мозге. Современные иммунологические, цитохимические и физиологические методы анализа продемонстрировали присутствие разных кишечных гормонов в ряде областей ЦНС. Многочисленные исследования показали, что пептиды могут высвобождаться вследствие активации определенных отделов интактного мозга или срезов мозга.

Вещество P

Первым пептидным медиатором, представленным в ЦНС, оказался медиатор, известный как вещество P. Вещество P состоит из 11 аминокислотных остатков и является представителем семейства тахикининов. Были выделены три рецептора нейрокининов (NK1, NK2, NK3), которые сопряжены с G-белками. Оказалось, что в спинном мозге ве-

щество Р является медиатором в окончаниях сенсорных аксонов дорзальных слоев, связанных с восприятием боли (рис. 5.19).

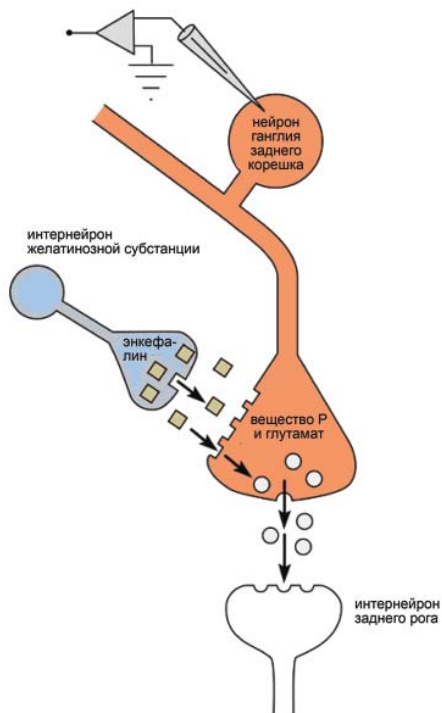


Рис. 5.19. Нейронная передача ощущения боли в спинном мозге. Нейроны ганглия заднего корешка, которые отвечают на болевые стимулы, высвобождают вещество Р и глутамат в синапсах, образованных ими на интернейронах заднего рога спинного мозга. Интернейроны желатинозной субстанции заднего рога, содержащие энкефалин, блокируют передачу, ингибируя высвобождение медиатора из окончаний нейронов ганглия заднего корешка.

Опиоидные пептиды

В мозге и кишечнике найдены рецепторы, которые с высокой специфичностью связываются с морфином. Эти рецепторы также специфично связываются с эндогенными опиоидными пептидами — энкефалинами (Met-энкефалин и Leu-энкефалин). Опиоидные пептиды и их рецепторы сконцентрированы в отделах мозга, связанных с восприяти-

ем боли. Стимуляция этих отделов приводит к анальгезии, которая блокируется налоксоном (антагонистом опиатных рецепторов).

В спинном мозге обнаружены опиоидные нейроны, аксоны которых оканчиваются на терминалях нейронов ганглия заднего корешка спинного мозга, выделяющих вещество Р (рис. 5.19). Стимуляция нейронов ганглия приводит к высвобождению вещества Р. Энкефалины, взаимодействуя с опиатными ***μ-рецепторами***, активируют Ca^{2+} -зависимые K^+ -каналы и уменьшают длительность потенциала действия. Укорочение потенциала действия уменьшает выделение из аксонных терминалей сенсорного нейрона вещества Р.

Другие опиоидные пептиды связываются с ***κ-рецепторами***. Эти рецепторы уменьшают высвобождение медиатора, ингибируя посредством активации G_o -белков потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы. $μ$ -рецепторы и еще один опиатный $δ$ -рецептор через G_i -белки ингибируют аденилатциклазу, уменьшая концентрацию цАМФ, что приводит к открытию K^+ -каналов.

Три типа опиоидных рецепторов взаимодействуют с большим числом эндогенных опиоидных пептидов. Примерами таких пептидов являются $β$ -эндорфин и динорфин А.

Прямое введение энкефалинов в мозг воспроизводит анальгетический и эйфорический эффекты опиатов.

Выводы

- Ионные каналы подразделяют на группы в зависимости от механизма их активации: лиганд-активируемые, потенциал-активируемые, активируемые фосфорилированием (дефосфорилированием), циклическими нуклеотидами, ГТФ-связывающими белками, растяжением или сжатием участка клеточной мембраны.

- Химическая синаптическая передача сигнала между нейронами происходит в результате активации мембранных рецепторов лигандом (медиатором). Рецепторы управляют состоянием ионных каналов, либо непосредственно открывая ионный канал (ионотропные рецепторы), либо инициируя метаболические каскады (метаботропные рецепторы), приводящие к изменению состояния каналов.

- Функцию химической синаптической передачи в нервной системе выполняют основные медиаторы — ацетилхолин, норадреналин, адреналин, дофамин, серотонин, гистамин, аминокислоты глутамат и гамма-аминомасляная кислота, пуриновые нуклеотиды (АТФ и аденозин), а также многочисленные пептиды.

- Каждый медиатор взаимодействует с несколькими разновидностями мембранных рецепторов, поэтому синаптический эффект медиатора зависит от свойств рецептора. Рецепторы, чувствительные к одному медиатору, могут вызывать разные события — открывать ионные каналы или инициировать пути внутриклеточной сигнализации с синтезом вторичных посредников.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Ашмарин И. П. Биохимия мозга. СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 1999.
2. Николс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. М.: Едиториал УРСС, 2003.
3. Шульговский В. В. Физиология центральной нервной системы. М.: МГУ, 1997.
4. Эккерт Р., Рэнделл Д., Огастин Дж. Физиология животных. Механизмы и адаптация. М.: Мир, 1991.

Дополнительная

1. Руководство по физиологии. Общая физиология возбудимых мембран. Л.: Наука, 1973.
2. Хухо Ф. Нейрохимия. Основы и принципы. М.: Мир, 1990.
3. Zigmond M. J., Bloom F. E., Landis S. C., Roberts J. L. Squire., L. R. Fundamental Neuroscience. Academic Press, San Diego, London, 1999.

Глава 6. ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНА

6.1. Потенциал покоя

В главе рассматриваются механизмы генерации, поддержания и проведения электрических потенциалов в нейроне: потенциала покоя, возбуждающих и тормозных постсинаптических потенциалов, локальных потенциалов и потенциалов действия в миелинизированных и немиелинизированных аксонах. Анализируются вопросы, от чего зависит пресинаптическая модуляция и постсинаптический эффект. Описываются кабельные свойства нервных и мышечных волокон, влияние кабельных свойств на возбудимость нейронов и проведение потенциалов по сложным нейронным отросткам, молекулярная структура потенциал-зависимых каналов и транспортные системы в мембране нейронов. Раскрывается понятие рефрактерного периода. Кроме того, в главе излагаются основы методики фиксации потенциалов.

В состоянии покоя разность потенциалов между цитоплазмой нейронов и окружающей средой, называемая потенциалом покоя (ПП), поддерживается на постоянном уровне и составляет в разных клетках (нейронах беспозвоночных и позвоночных, мышечных клетках) от -60 до -100 мВ. При этом через мембрану протекают разнообразные токи в обоих направлениях, и результирующий потенциал складывается из их суммы. В состоянии покоя мембрана главным образом проницаема для ионов K^+ , которые проводятся по каналам так называемого тока утечки. Эти каналы всегда открыты и являются высокоселективными, пропускающая через мембрану только ионы K^+ . Первую мембранную теорию, объясняющую механизм ПП, сформулировал Ю. Бернштейн. В 1902 г. он выдвинул гипотезу, согласно которой клеточная мембрана пропускает внутрь клетки ионы K^+ , и они накапливаются в цитоплазме. Расчет величины ПП по уравнению Нернста для калиевого электрода удовлетворительно совпал с измеренным потенциалом между саркоплазмой мышцы и окружающей средой, который составлял около -70 мВ:

$$E_{K^+} = - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[K^+]_{in}}{[K^+]_{out}},$$

где $[K^+]_{in}$ и $[K^+]_{out}$ — концентрации K^+ , соответственно, внутри клетки и в окружающей среде.

Механизм ПП складывается из ионных токов, возникающих в мембране из-за разности концентраций этих ионов по обе стороны мембраны (табл. 6.1).

Таблица 6.1

Концентрации основных ионов, определяющих потенциал покоя, внутри и снаружи изолированного аксона кальмара в экспериментах А. Ходжкина и А. Хаксли

Ион	Концентрация, ммоль		
	Аксоплазма	Плазма крови	Морская вода
K^+	400	20	10
Na^+	50	440	460
Cl^-	40-150	560	540
Ca^{2+}	$0.3 \cdot 10^{-3}$	10	10

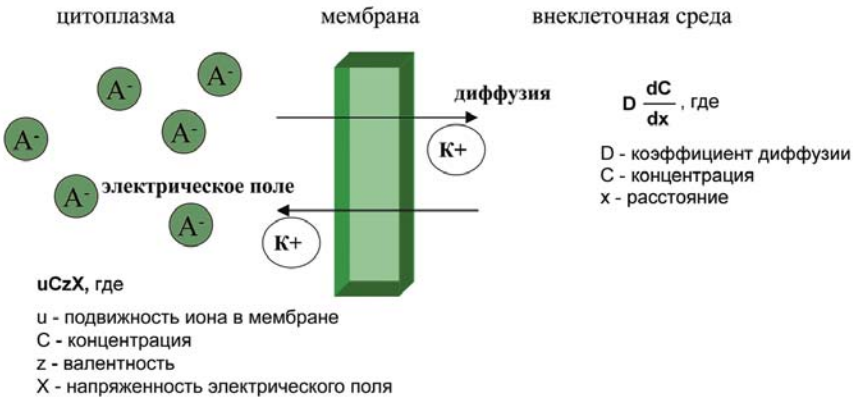


Рис 6.1. Факторы, определяющие движение K^+ через мембрану при потенциале покоя. Объяснения в тексте.

Концентрация K^+ в клетке существенно выше, чем во внеклеточной среде. Под действием концентрационного градиента (силы диффузии) K^+ выходит из клетки (рис. 6.1). Сила диффузии определяется дифференциалом концентрации K^+ (dC) по толщине мембраны (dx). Однако электрическое поле негативного потенциала, формируемое высокомолекулярными анионами цитоплазмы, удерживает K^+ в цитоплазме. Сила электрического поля определяется концентрацией K^+ внутри клетки (C), его валентностью (z) и подвижностью в мембране (u), а также

напряженностью электрического поля (X). При уравнивании этих двух сил ПП равен равновесному потенциалу для K⁺:

$$D \frac{dC}{dx} = - uCzX$$

Дальнейшие исследования механизмов ПП, выполненных на гигантских аксонах кальмара, показали что ПП зависит не только от разности концентраций K⁺ по разные стороны мембраны (рис. 6.2). В диапазоне концентраций, близких к естественным условиям, график зависимости величины ПП от логарифма концентрации внеклеточного K⁺ отклоняется от линейной функции. Это означает, что в покое мембрана проницаема и для других ионов, в частности, Na⁺ и Cl⁻, и поток этих ионов осуществляет определенный вклад в формирование ПП. Как показали прямые измерения и расчеты, проницаемость мембраны для Na⁺ может составлять 1-10% проницаемости для K⁺, а проницаемость для Cl⁻ зависит от уровня мембранного потенциала и может составлять до 15% проницаемости для K⁺. А. Ходжкин и Б. Катц предложили более сложный механизм формирования ПП, учитывающий вклад других ионов:

$$E_{K^+} = - \frac{RT}{nF} \ln \frac{P_K [K^+]_{in} + P_{Na} [Na^+]_{in} + P_{Cl} [Cl^-]_{out}}{P_K [K^+]_{out} + P_{Na} [Na^+]_{out} + P_{Cl} [Cl^-]_{in}},$$

где []_{in} и []_{out} — концентрации ионов, соответственно, внутри клетки и в окружающей среде, P — проницаемость для ионов. Для аниона Cl⁻ внешняя концентрация помещена в числитель уравнения, поскольку электрически входящий ток анионов реально соответствует выходу анионов из клетки.

Приведенное уравнение называют «уравнением постоянного поля», поскольку одним из допущений при его выводе является равномерное распределение градиента напряжения (электрического поля) по всей толщине мембраны.

В действительности ПП определяется не только потоками ионов по их концентрационным градиентам. Для поддержания разности концентраций для основных ионов в мембране клеток представлены разнообразные механизмы. Специальные транспортные системы переносят ионы против их концентрационных градиентов с использованием энергии АТФ, а также концентрационных градиентов других ионов. Для поддержания клетки в стабильном состоянии затрачивается как метаболическая энергия, так и энергия ионных градиентов. Таким об-

разом, ПП складывается как из переноса зарядов в результате пассивного движения ионов по их концентрационным градиентам, так и из переноса зарядов в результате активного транспорта.

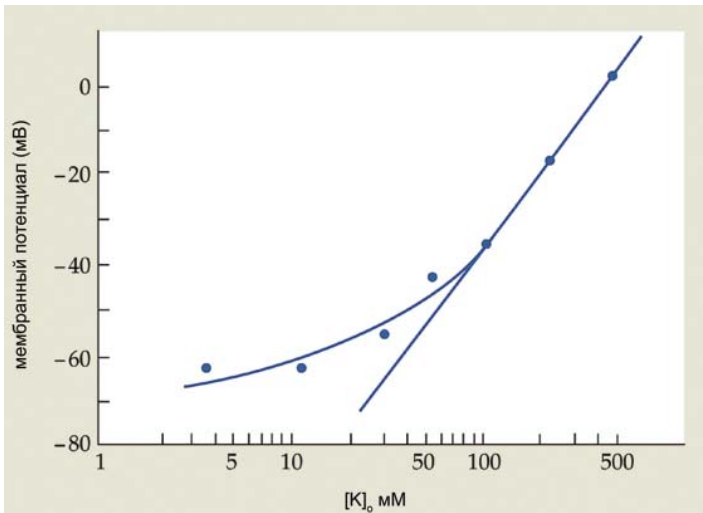


Рис. 6.2. Зависимость величины потенциала покоя от наружной концентрации K^+ . В диапазоне концентраций, близких к естественным условиям, график зависимости отклоняется от линейной функции из-за вклада в потенциал покоя ионов Na^+ и Cl^- .

Необходимо отметить, что первые гипотезы о механизмах ПП были сформулированы на основе экспериментов на относительно простых объектах — мышечных волокнах и гигантских аксонах кальмара. В настоящее время в мембранах нейронов описано много ионных токов, которые зависят от мембранного потенциала и других факторов. Все эти токи вносят определенный вклад в ПП.

6.2. Постсинаптические потенциалы

Химические синапсы как морфологические образования являются местами контакта между нейронами и их адресатами (другие нейроны, мышечные клетки, железы). Главная функциональная роль синапсов — это осуществление модуляции нервного импульса. Существуют два механизма коммуникации нейронов, которые соответствуют двум типам химических синапсов — возбуждающему и тормозному. В возбуждающих синапсах происходит перенос нервного импульса от одной

нервной клетки к другой, а в тормозных — полученный нервной клеткой импульс препятствует ее возбуждению.

В химических синапсах потенциал действия (ПД), приходящий в нервное окончание, вызывает высвобождение молекул нейромедиатора в синаптическую щель. В синапсах, обеспечивающих прямую синаптическую передачу, медиатор связывается с ионотропными (лиганд-активируемыми) рецепторами на мембране постсинаптической клетки. В результате рецепторы напрямую открывают ионные каналы, что приводит к изменению ионной проводимости и, следовательно, к смещению мембранного потенциала. Иногда изменение ионной проводимости не приводит к изменению мембранного потенциала. В синапсах, обеспечивающих непрямую синаптическую передачу, медиатор взаимодействует с метаболотропными рецепторами, которые запускают разнообразные каскады внутриклеточной сигнализации (см. гл. 5 настоящего руководства).

6.2.1. Возбуждающие постсинаптические потенциалы

Первые исследования синаптической передачи были проведены на нервно-мышечном препарате. Ацетилхолин (АХ), выделяющийся в нервно-мышечном синапсе (называемом концевой пластинкой), вызывает активацию (деполяризацию) мышечного волокна и его последующее сокращение.

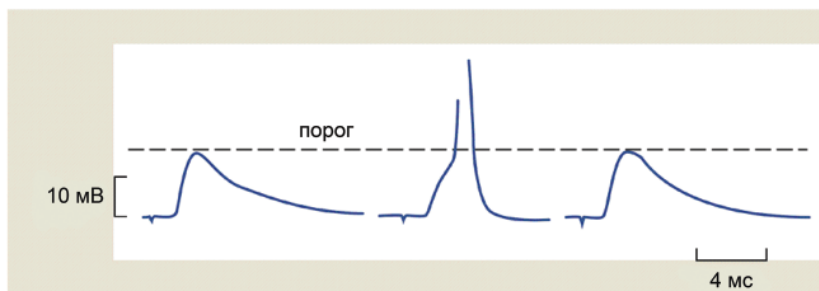
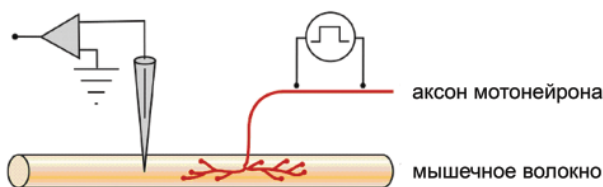


Рис. 6.3. Потенциалы концевой пластинки, возникающие при стимуляции аксона мотонейрона. На средней записи потенциал перерастает в мышечный импульс.

Во время стимуляции мотонейрона микроэлектрод, введенный в мышечное волокно в непосредственной близости от концевой пластинки, регистрирует потенциал концевой пластинки (ПКП). ПКП представляет собой быстро нарастающую деполяризацию, за которой следует возвращение мембранного потенциала к ПП с постоянной времени около 5 мс; эта константа примерно соответствует времени разряда мембранной емкости (рис. 6.3). При достижении некоторого порогового значения ПКП перерастает в мышечный импульс, который быстро и без затухания распространяется вдоль мышечного волокна. По мере удаления регистрирующего электрода от области концевой пластинки амплитуда ПКП монотонно уменьшается, а время роста ПКП увеличивается (рис. 6.4). Такие свойства ПКП объясняются кабельными свойствами мышечного волокна. Это означает, что ПКП генерируется кратковременным импульсом тока, который входит в мышечное волокно в области концевой пластинки и вызывает быструю деполяризацию. Вызванный этим током потенциал спадает пассивно, распространяясь от концевой пластинки в обоих направлениях, и постепенно затухает.

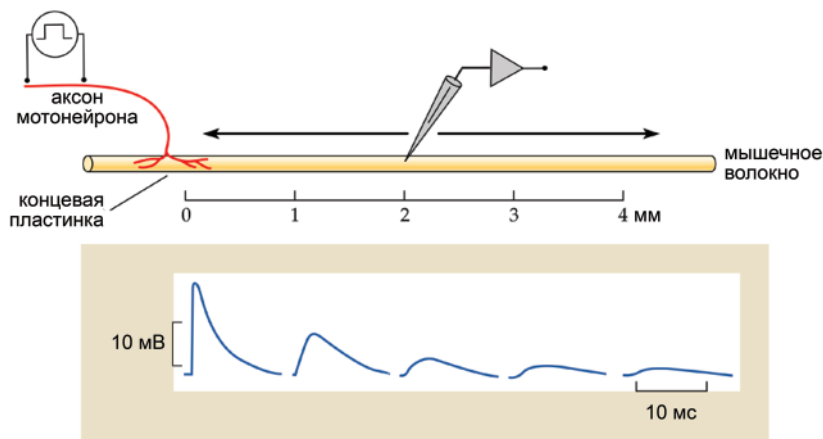


Рис. 6.4. По мере удаления регистрирующего электрода от области концевой пластинки амплитуда ПКП монотонно уменьшается, а время роста ПКП увеличивается.

Методом фиксации потенциала в мышечном волокне были исследованы токи, проходящие через мембрану мышечной клетки во время развития ПКП. При изменении внеклеточной концентрации Na^+ установи-

ли, что входящий ток, порождающий ПКП, переносится ионами Na^+ . Входящий Na^+ -ток частично компенсируется выходящим K^+ -током.

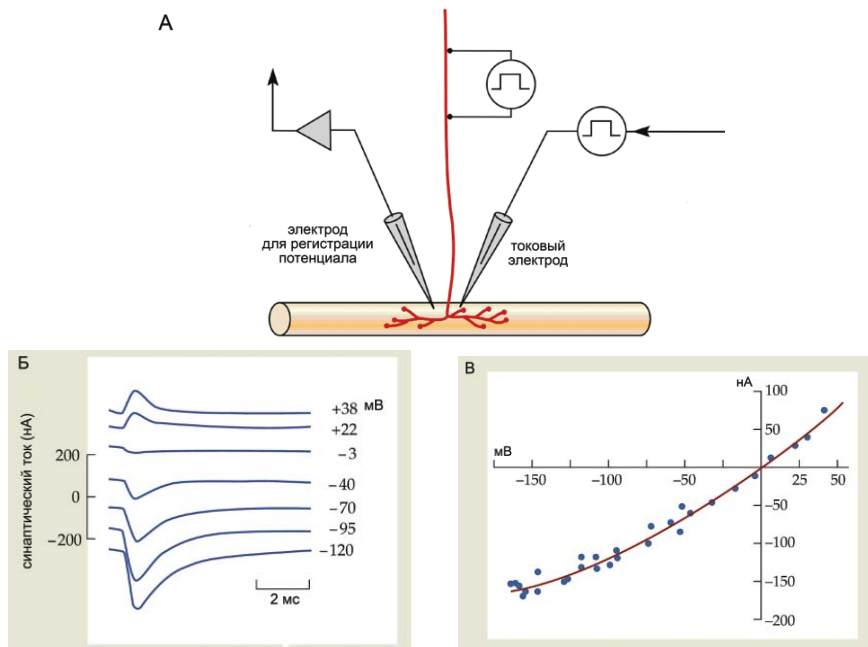


Рис. 6.5. Зависимость тока концевой пластинки, или возбуждающего постсинаптического тока (ВПСТ), в ответ на стимуляцию двигательного волокна от МП. (А) Методом фиксации потенциала МП поддерживали постоянным на различных уровнях. (Б) Высокоамплитудный входящий ВПСТ наблюдается при потенциале -120 мВ; ВПСТ снижается по мере деполяризации, при -3 мВ практически не регистрируется, а при дальнейшей деполяризации инвертируется и увеличивается по амплитуде. (В) Зависимость амплитуды и полярности ВПСТ концевой пластинки от мембранного потенциала.

Также методом фиксации потенциала была исследована зависимость тока, протекающего через мембрану мышечной клетки при ее возбуждении, от уровня потенциала на мембране. Оказалось, что амплитуда тока входящего направления монотонно увеличивается по мере гиперполяризации мембраны (рис. 6.5). При приближении фиксированного потенциала к отметке -3 мВ ток концевой пластинки уменьшается до нуля, а затем меняет направление. При дальнейшем увеличении потенциала в положительную область амплитуда выходящего

тока монотонно увеличивается. Значение мембранного потенциала, при котором суммарный ток равен нулю ($I_{K^+} = I_{Na^+}$, т.е. входящий ток компенсируется выходящим), называют потенциалом реверсии тока. При регистрации активности отдельных каналов мембраны (пэтч-кламп) при фиксации потенциала мышечной клетки на разном уровне также была выявлена инверсия тока при потенциале, близком к нулю.

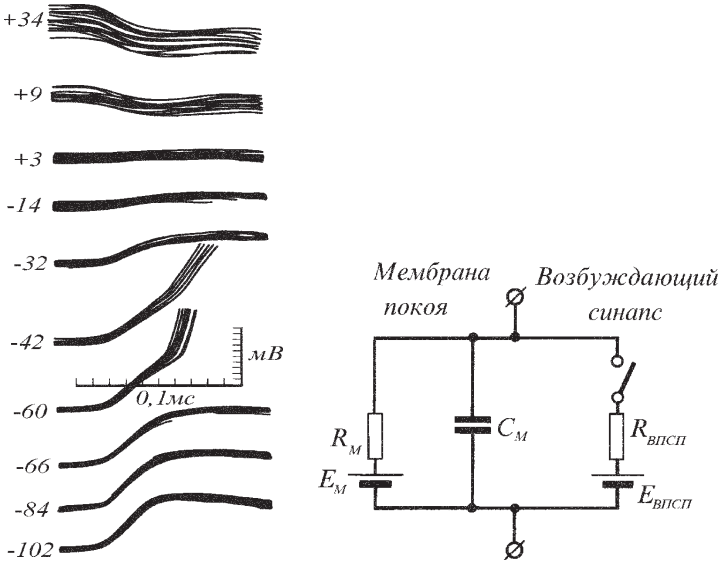


Рис. 6.6. Слева — ВПСП мотонейрона, вызванные электрической стимуляцией возбуждающих входов, при различном уровне мембранного потенциала, устанавливаемом методом фиксации тока через внутриклеточный электрод. Справа — эквивалентная электрическая схема возбуждающего синапса. Активация возбуждающего синапса (замыкание ключа) включает э.д.с. равновесного потенциала ВПСП.

Мембранный потенциал нейрона можно изменять в широком диапазоне, используя метод фиксации тока, когда через внутриклеточный электрод в нейрон подают постоянный ток. В мотонейроне при разных уровнях мембранного потенциала были зарегистрированы возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП), вызываемые стимуляцией возбуждающих входов (рис. 6.6). При ПП и гиперполяризации в ответ на стимуляцию в нейроне развивается ВПСП. Если потенциал сместить в диапазон от -60 до -40 мВ, ВПСП переходит в ПД, поскольку деполяризация достигает порога активации потенциал-зависимых Na^+ -каналов,

ответственных за ПД. Дальнейшая деполяризация вызывает уменьшение амплитуды ВПСП, а при потенциале, близком к нулю, ВПСП не возникает. Еще большая деполяризация приводит к инверсии знака потенциала. Подобная зависимость амплитуды и знака ВПСП от мембранного потенциала, а также наличие равновесного потенциала свидетельствует о том, что ВПСП является результатом ионных токов, протекающих через мембрану по своим электрохимическим градиентам. Формально активация возбуждающего синапса соответствует замыканию ключа в электрической схеме (рис. 6.6), в результате чего включается электродвижущая сила (э.д.с.) равновесного потенциала ВПСП.

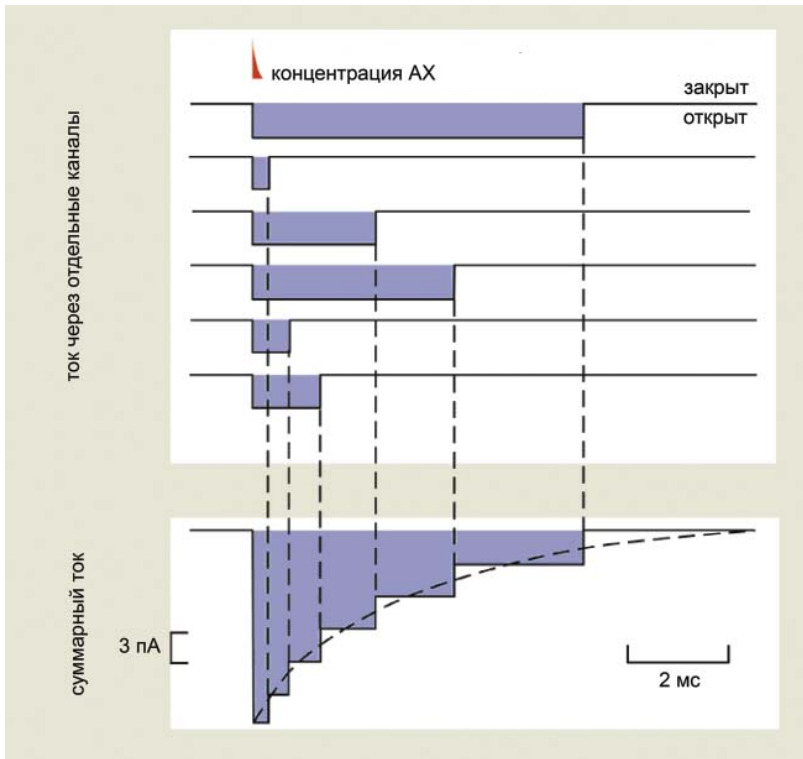


Рис. 6.7. Токи отдельных каналов, зарегистрированных методом пэтч-кламп, при аппликации АХ на мембрану мышечной клетки (вверху) и суммарный ток концевой пластинки (внизу). Токи отдельных каналов синхронизированы от момента аппликации АХ. Ток концевой пластинки является результатом сложения токов, протекающих через одиночные каналы.

В дальнейшем было установлено, что рецептор, чувствительный к ацетилхолину, является ионотропным и управляет каналом, проводящим при активации смешанный Na^+/K^+ -ток (см. параграф 5.4.1). С использованием метода пэтч-кламп было показано, что при непрерывной аппликации АХ активируемые им ионные каналы открываются и закрываются по принципу «все или ничего». Суммарный ток, складывающийся из токов отдельных каналов, синхронизированных от момента аппликации АХ, по форме и длительности соответствует току концевой пластинки (рис. 6.7).

ВПСП в нейронах обладают такими же свойствами, как ПКП в мышечных клетках. По своему функциональному значению в механизмах межнейронной сигнализации ВПСП является событием, повышающим вероятность генерации ПД и, соответственно, распространения возбуждения по нейронным сетям. Ток, который вызывает смещение потенциала на мембране в сторону деполяризации (ВПСП), называют возбуждающим постсинаптическим током (ВПСТ). С развитием микроэлектродной техники были изучены многие ВПСП (и ВПСТ), возникающие при химической синаптической активации всеми известными медиаторами всех известных рецепторов.

6.2.2. Тормозные постсинаптические потенциалы

В синапсах, обеспечивающих синаптическое торможение с активацией ионотропных каналов, лежат те же механизмы, что и в основе работы возбуждающих синапсов с активирующими ионотропными рецепторами. В нейроне регистрируется ВПСП, если в его мембране активируются каналы, пропускающие токи с потенциалом реверсии более положительным, чем порог ПД. Напротив, в нейроне будет регистрироваться тормозный потенциал (отклонение в сторону гиперполяризации), если в его мембране активируются каналы, пропускающие токи с потенциалом реверсии более отрицательным, чем порог ПД.

Гиперполяризация, вызываемая тормозным медиатором в нейроне, называется тормозным постсинаптическим потенциалом (ТПСП). По своему функциональному значению в механизмах межнейронной сигнализации ТПСП является событием, снижающим вероятность генерации ПД и, соответственно, прекращающим (или затрудняющим) распространение возбуждения по нейронным сетям. Ток, который вызывает смещение потенциала на мембране в сторону гиперполяризации (ТПСП), называют тормозным постсинаптическим током (ТПСТ).

Прямое синаптическое торможение вызывается активацией тормозным медиатором ионотропных каналов, проводящих ионы Cl^- . Во многих нейронах ионы Cl^- имеют равновесный потенциал, близкий к ПП.

Первые исследования прямого синаптического торможения были проведены на нервно-мышечном соединении членистоногих, рецепторе растяжения рака и мотонейронах спинного мозга кошки.

Мотонейроны спинного мозга млекопитающих тормозятся тормозными интернейронами.

С целью исследования характеристик ТПСП методом фиксации тока изменяли мембранный потенциал мотонейрона и стимулировали его тормозные входы (рис. 6.8 А). При потенциале покоя (-74 мВ) стимуляция тормозных входов вызывает небольшой по амплитуде ТПСП. При деполяризации мембраны (-64 мВ и выше) амплитуда ТПСП монотонно увеличивается. При гиперполяризации клетки до -82 мВ амплитуда ТПСП снижается почти до нуля и при этом меняет полярность (реверсия потенциала). При гиперполяризации мембраны ниже -82 мВ амплитуда реверсированного (положительного по знаку) ТПСП монотонно увеличивается. Таким образом, потенциал реверсии ТПСП в мотонейроне составляет около -80 мВ.

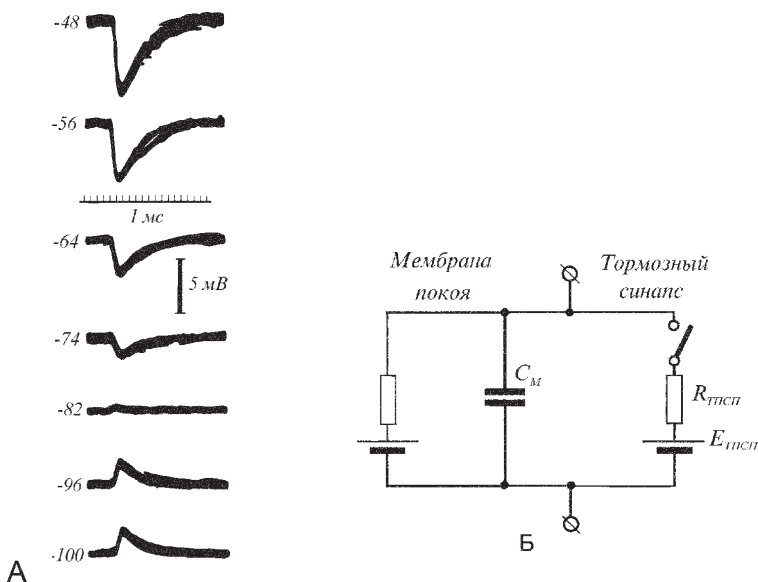


Рис. 6.8. Слева — ТПСП мотонейрона, вызванные электрической стимуляцией тормозных входов, при различном уровне мембранного потенциала, устанавливаемом методом фиксации тока через внутриклеточный электрод. Справа — эквивалентная электрическая схема тормозного синапса. Активация тормозного синапса (замыкание ключа) включает э.д.с. равновесного потенциала ТПСП.

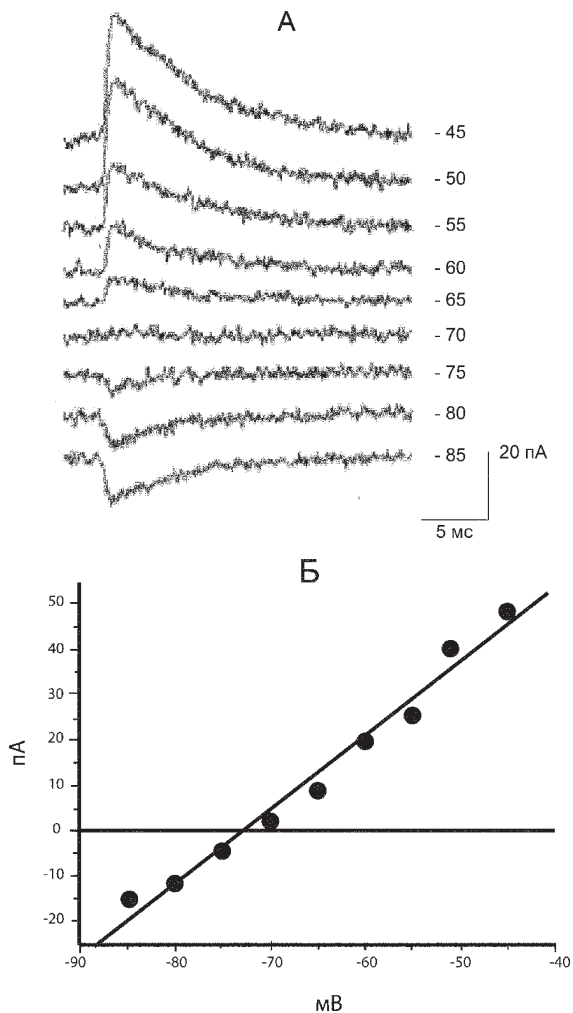


Рис. 6.9. (А) Зависимость ТПСТ мотонейрона, вызываемых стимуляцией тормозных входов, от мембранного потенциала. (Б) Зависимость амплитуды и полярности ТПСТ мотонейрона от мембранного потенциала.

В другом эксперименте посредством метода фиксации потенциала были измерены токи, текущие через мембрану мотонейрона, при стимуляции его тормозных входов (рис. 6.9). При деполяризации мембраны выше -70 мВ регистрировали выходящие токи увеличивающейся

амплитуды, отражающие вход анионов Cl^- в нейрон. При гиперполяризации мембраны ниже -70 мВ направление тока менялось, а его амплитуда увеличивалась с гиперполяризацией. Таким образом, уровень потенциала -70 мВ является для данного нейрона точкой реверсии Cl^- -тока, и, соответственно, ТПСР.

Выявленная зависимость свойств ТПСР от мембранного потенциала и наличие равновесного потенциала свидетельствует в пользу того, что ТПСР является результатом ионного тока, протекающего через мембрану по своему электрохимическому градиенту. Формально тормозный синапс можно представить ключом, который замыкает электрическую цепь, в результате чего включается э.д.с. равновесного потенциала ТПСР (рис. 6.8 Б). Каналы в мембране мотонейронов, ответственные за торможение, пропускают ионы Cl^- . Прямым доказательством хлорного механизма ТПСР является тот факт, что введение Cl^- в мотонейроны сдвигает хлорный равновесный потенциал и, соответственно, потенциал реверсии ТПСР в положительном направлении.

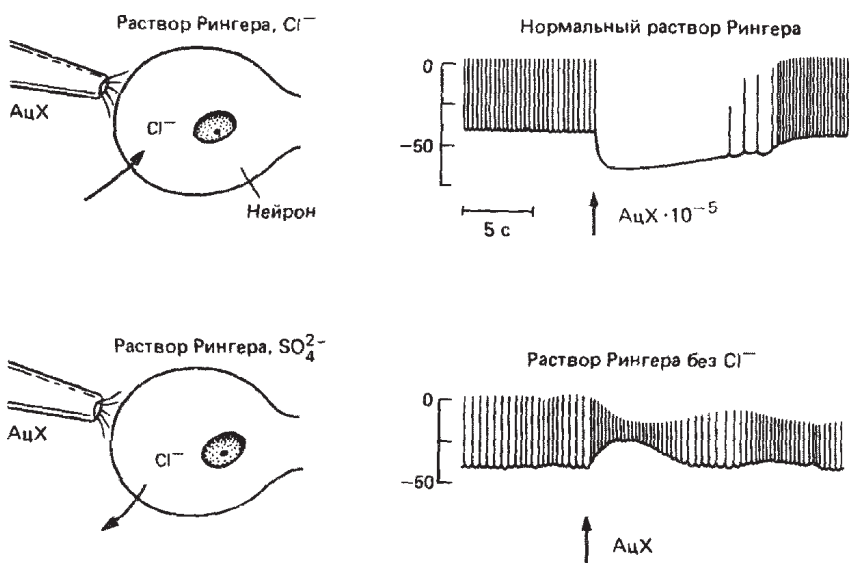


Рис. 6.10. Инверсия ТПСР нейрона улитки, вызванного аппликацией АХ на его мембрану, при смещении равновесного потенциала для Cl^- при его замене во внеклеточном растворе на SO_4^{2-} . Вверху — ТПСР в ответ на аппликацию АХ в нормальных условиях, внизу — деполяризация в ответ на аппликацию АХ в среде без Cl^- .

Аналогичный эксперимент был проведен на нейронах улитки, только вместо введения Cl^- в нейрон этот анион удалили из внеклеточной среды, заменив его на SO_4^{2-} . В естественных условиях при действии АХ на некоторые нейроны улитки (Н-клетки) в их мембранах увеличивается Cl^- -проводимость, что вызывает гиперполяризацию (ТПСП) и прекращение импульсной активности (рис. 6.10). При замене во внеклеточной среде Cl^- на SO_4^{2-} АХ вызывает в Н-нейронах ток противоположного направления из-за того, что равновесный потенциал для Cl^- сместился в положительном направлении. В результате вместо ТПСП в нейроне генерируется деполяризация, что приводит к учащению разрядов нейрона.

6.3. Пресинаптическое торможение

Этот дополнительный механизм торможения был открыт в спинном мозге кошки, а также в нервно-мышечном соединении речного рака. Пресинаптическое торможение заключается в уменьшении количества медиатора, высвобождаемого из возбуждающих аксонных терминалей.

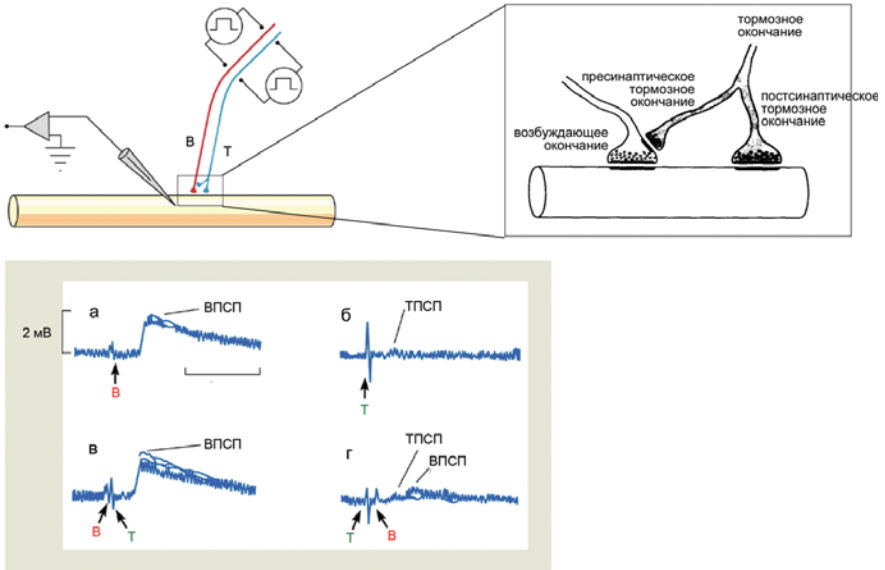


Рис. 6.11. Пресинаптическое торможение в нервно-мышечном синапсе рака. В — возбуждательный вход, Т — тормозный вход. Объяснения в тексте.

Тормозный нерв в нервно-мышечном соединении рака воздействует не только на мышечное волокно, но также и на аксонную терминаль возбуждающего входа. Стимуляция по отдельности возбуждающего и тормозного входов вызывает, соответственно, ВПСП и малый по амплитуде ТПСП положительной амплитуды (рис. 6.11, а, б). Если возбуждающий вход активируется на 1,5 мс раньше, чем тормозный (рис. 6.11, в), в мышце развивается обычный ВПСП (как на рис. 6.11, а). Если тормозный вход активируется раньше возбуждающего (рис. 6.11, г), в мышце регистрируется положительный ТПСП (как на рис. 6.11, б) и следующий за ним ВПСП существенно меньшей, чем на фрагменте а, амплитуды. Пресинаптическое и постсинаптическое окончания тормозного входа выделяют ГАМК, которая увеличивает Cl^- -проводимость. Предполагается, что при возрастании Cl^- -проводимости в мембране нервного окончания ослабляется деполяризующий эффект приходящего ПД. В результате происходит снижение амплитуды ПД и количества выделившегося медиатора из возбуждающего окончания.

Было показано, что пресинаптическое торможение во многих синапсах млекопитающих происходит также и в результате ингибирования потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов в окончаниях аксонов. Функциональное значение пресинаптического и постсинаптического торможения в ЦНС существенно различаются. Постсинаптическое торможение снижает вероятность генерации ПД, устраняя все возбуждающие влияния. Пресинаптическое торможение избирательно блокирует (или ослабляет) только определенный вход, оставляя возможность нейрону реагировать на другие воздействия. Пресинаптическое торможение осуществляется через аксо-аксональные синапсы, существование которых было показано методом электронной микроскопии в нервно-мышечном соединении рака и в различных областях ЦНС млекопитающих. Пресинаптические эффекты имеют место и на тормозных окончаниях, что было обнаружено в тормозных синапсах рецептора растяжения рака. Кроме того, имеются также данные о существовании пресинаптического возбуждения, которое усиливает деполяризацию пресинаптического окончания и, соответственно, увеличивает количество выделяемого медиатора.

6.4. От чего зависит постсинаптический эффект?

В реальных условиях нейрон подвергается массивной синаптической бомбардировке со стороны окружающих нейронов. В то же время в самом нейроне и в локальном его окружении происходят трудно контролируемые изменения ионного состава, РН, метаболические процессы, влияющие на состояние нейрона.

Эффект медиатора определяется типом рецептора, который управляет каналом, проводящим один или несколько ионов. Знак и амплитуда постсинаптического потенциала зависит от типа иона, который проникает через канал, и его равновесного потенциала. При возникновении проводимости для определенного иона переносимый им ток будет сдвигать мембранный потенциал в сторону равновесного потенциала для этого иона. Равновесный потенциал иона определяется различием концентраций по обе стороны мембраны. Если через активированный канал проходят несколько ионов, то результирующий равновесный потенциал будет аддитивно складываться из равновесных потенциалов для каждого из ионов. Так, равновесный потенциал ПКП в мышечном волокне, каналы которого при активации пропускают ионы Na^+ и K^+ , складывается из суммы равновесных потенциалов для Na^+ (около $+55$ мВ) и K^+ (около -90 мВ) и в результате оказывается примерно посередине между этими равновесными потенциалами. Значение мембранного потенциала, при котором суммарный ток равен нулю, т.е. входящие токи компенсируются выходящими, называют потенциалом реверсии тока.

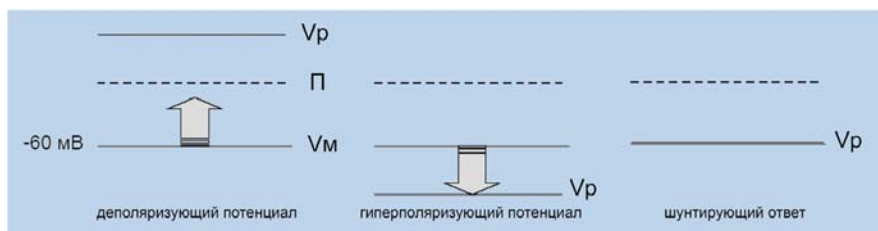


Рис. 6.12. Зависимость эффекта тока от его равновесного потенциала. V_r — потенциал реверсии, V_m — потенциал мембраны, P — порог генерации ПД. Объяснения в тексте.

Если синаптически активируемые токи приближают мембранный потенциал к пороговому уровню ПД (деполяризация), то этот потенциал является возбуждающим (рис. 6.12, слева). Если токи отдаляют мембранный потенциал от порогового уровня ПД (гиперполяризация), то этот потенциал является тормозным (рис. 6.12, в середине). Тормозный ответ не обязательно должен быть гиперполяризирующим. Например, часто синаптическое торможение заключается в увеличении K^+ -проводимости. Равновесный потенциал для K^+ примерно равен ПП, и при активации K^+ -проводимости обычно не происходит изменений величины мембранного потенциала (рис. 6.12, справа). Однако этот эффект действительно является тормозным и значительно ослабляет возбуждающие воздействия на нейрон. В этом заключается шунтирующее действие K^+ -проводимости. При

этом не регистрируются какие-либо выходящие токи, но открытие K^+ каналов приводит к существенному падению сопротивления мембраны, и, в соответствии с законом Ома, требуются существенно большие входящие токи, чтобы сместить потенциал мембраны к порогу генерации ПД. Эффективность синаптического воздействия может меняться и при изменениях равновесных потенциалов для ионов. В свою очередь равновесные потенциалы зависят от градиента концентрации для ионов по обе стороны мембраны, которые могут варьировать по многим причинам.

6.5. Потенциалы непрямо́й синаптической передачи

Синаптические эффекты, опосредованные метаболитными рецепторами, отличаются замедленной динамикой развития потенциалов, поскольку метаболические процессы включают сложные многоэтапные внутриклеточные каскады, требующие большего времени (параграф 5.3).

Многие медиаторы активируют метаболитные рецепторы, которые увеличивают K^+ -проводимость в мембранах нейронов. Стимуляция тормозных интернейронов в коре мозга через возбуждающие афференты вызывает выделение ГАМК в синапсе на пирамидном нейроне (рис. 6.13, А). Сразу после стимуляции в пирамидном нейроне регистрируется ранний ВПСП, поскольку коллатераль возбуждающего входа активирует и пирамидный нейрон (рис. 6.13, Б). Тормозный эффект ГАМК в пирамидном нейроне представлен ранним и поздним ТПСП, которые обеспечиваются, соответственно, рецепторами ГАМК_А и ГАМК_В. Ионотропный ГАМК_А-рецептор вызывает ранний и непродолжительный ТПСП, регистрируемый сразу после ВПСП, который успевает развиваться из-за дополнительной синаптической задержки на интернейроне. Однако после раннего ТПСП мембрана не возвращается к ПП из-за генерации позднего ТПСП. Локальное применение антагониста ГАМК_В-рецепторов факлофена устраняет поздний ТПСП, подтверждая K^+ -природу позднего ТПСП, обусловленного активацией ГАМК_В-рецептора. Устранение факлофена приводит к восстановлению позднего ТПСП.

6.6. Быстрые и медленные постсинаптические потенциалы

Разные медиаторы, воздействуя на разные рецепторы, вызывают в нейронах и в других эффекторах разнообразные ПСП, выполняющие множество функций в механизмах нейронной интеграции. Эти потенциалы отличаются по эффекту (возбуждающие и тормозные) и временной динамике (быстрые и медленные). Ниже приведена краткая характеристика некоторых изученных постсинаптических потенциалов.

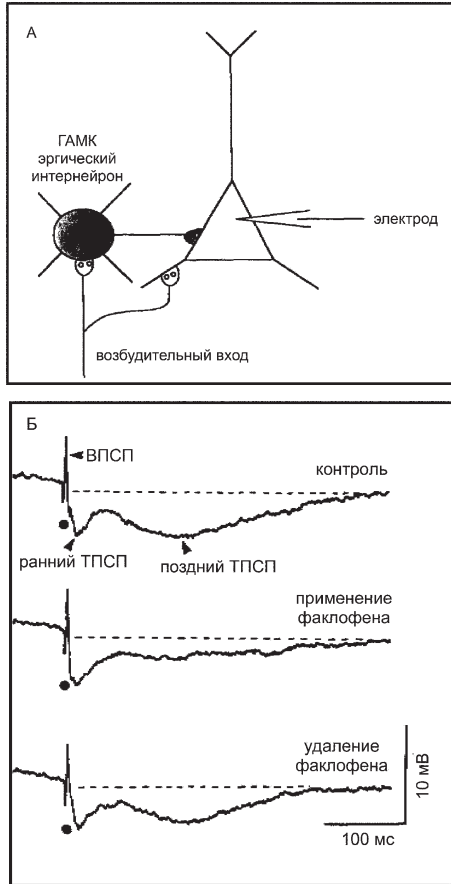


Рис. 6.13. Торможение пирамидного нейрона через ионотропные и метаболропные рецепторы ГАМК. (А) Конфигурация возбудительных (светлые) и тормозных (темные) синапсов на тормозном и пирамидном нейронах. (Б) Сразу после стимуляции в пирамидном нейроне регистрируется ранний ВПСР, поскольку коллатераль возбудительного входа активирует и пирамидный нейрон (контроль). Активация ГАМК_А-рецепторов вызывает увеличение Cl⁻-тока, который обеспечивает ранний быстрый ТПСР. Активация ГАМК_В-рецепторов приводит к увеличению K⁺-тока (через метаболропные K⁺-каналы), который вызывает задержанный продолжительный ТПСР. Антагонист ГАМК_В-рецепторов факлофен вызывает угнетение задержанного ТПСР (применение факлофена). При удалении факлофена задержанный ТПСР восстанавливается (удаление факлофена).

6.6.1. Быстрые ВПСП

Ацетилхолиновые (АХ) ВПСП вызываются активацией **никоотинового АХ-рецептора**, который открывает канал для катионов Na^+ , K^+ и Ca^{2+} . Потенциал реверсии этого тока около -5 мВ. Эти ВПСП регистрируются в нейронах ЦНС, спинном мозге (в клетках Реншоу), вегетативной нервной системе (в постганглионарных нейронах), скелетных мышцах.

Глутаматные ВПСП вызываются активацией трех типов глутаматных рецепторов, имеющих свои специфические агонисты: (1) **AMPA**, (2) **каиновая** кислота и (3) **NMDA**.

AMPA- и каиновые рецепторы открывают каналы для катионов Na^+ , K^+ и иногда Ca^{2+} . Потенциал реверсии этого тока около -0 мВ.

При ПП (-75 мВ) **NMDA-рецептор** блокирован ионами Mg^{2+} ; при деполяризации блок снимается, и через канал течет $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ -ток, вызывающий продолжительную деполяризацию. Активация NMDA-рецептора может вызвать продолжительный ток, лежащий в основе долговременной потенциации.

6.6.2. Быстрые ТПСП

ГАМК-ТПСП вызываются активацией **ГАМК_A-рецепторов**, которые открывают канал для Cl^- . Потенциал реверсии Cl^- -тока составляет около -75 мВ. Cl^- -ток обеспечивает быстрое торможение, например, пирамидных клеток коры и гиппокампа, вызываемое тормозными интернейронами и через коллатеральные тормозные пути.

ГАМК_A- и ГАМК_C-рецепторы управляют Cl^- -проводимостью в дендритах колбочковых и палочковых биполяров сетчатки позвоночных, соответственно.

Глициновые ТПСП вызываются активацией **глициновых рецепторов**, которые так же, как **ГАМК_{A(C)}-рецепторы**, открывают канал для Cl^- .

6.6.3. Медленные тормозные эффекты

Увеличение K^+ -проводимости обеспечивается действием многих медиаторов, например, ацетилхолина, норадреналина, серотонина, ГАМК, дофамина, аденозина, соматостатина, энкефалинов. Пирамидные клетки гиппокампа отвечают на серотонин, ГАМК (при участии метаботропных **ГАМК_B-рецепторов**) и аденозин **увеличением K^+ -проводимости**. Функциональное значение увеличения K^+ -проводимости состоит в торможении, в результате которого вероятность генерации ПД в нейроне уменьшается.

Уменьшение Ca^{2+} -проводимости. АХ, норадреналин, серотонин и ГАМК могут уменьшать Ca^{2+} -ток в пресинаптических мембранах. Уменьшение этого тока рассматривается как отрицательная обратная связь, которая регулирует уровень выделившегося в синаптическую щель медиатора. Поскольку выделение медиатора обеспечивается входом Ca^{2+} в аксонную терминаль, уменьшение входящего Ca^{2+} -тока уменьшает количество выделившегося медиатора.

6.6.4. Медленные возбуждательные эффекты (уменьшение K^+ -проводимости)

В мембранах нейронов обнаружены потенциал-зависимые K^+ -токи (параграф 6.8.10), которые блокируются рядом медиаторов.

Уменьшение $I_{АНР}$ (K^+ -ток следовой гиперполяризации) показано при действии ряда медиаторов — норадреналина, ацетилхолина, серотонина, гистамина, глутамата. Этот ток регулируется через систему вторичных посредников при участии цАМФ и обеспечивает адаптацию частоты спайковых разрядов, т.е. постепенное ее уменьшение до устранения ПД. При уменьшении $I_{АНР}$ адаптация устраняется (ослабевает), что приводит к продолжительной импульсации нейронов в течение всего времени действия стимула. Функциональное значение этого тока состоит в увеличении отношения «сигнал-шум» в ответе нейрона на стимул.

Уменьшение I_M (мускариновый K^+ -ток) обеспечивается мускариновыми АХ-рецепторами. Этот ток так же, как и $I_{АНР}$, участвует в адаптации спайковых разрядов, активируется при деполяризации выше -65 мВ и, в отличие от $I_{АНР}$, не проявляется при ПП. I_M уменьшается при активации различных рецепторов, включая серотонинэргические, глутаматэргические, а также некоторые пептидные рецепторы.

6.7. Проведение локальных потенциалов

Пассивные электрические свойства нейронов (сопротивление и емкость мембраны, а также сопротивление цитоплазмы) играют важную роль в распространении электрических потенциалов по нейронным сетям. В периферических рецепторах потенциалы возникают при действии раздражителей различной физической природы (рецепторные потенциалы), в постсинаптических мембранах потенциалы возникают в результате ионной проводимости при синаптической передаче (постсинаптические потенциалы). Амплитуда таких потенциалов градуально изменяется в зависимости от амплитуды токов, протекающих

через мембраны периферических рецепторов и нейронов. В органах чувств через градуальные потенциалы происходит генерация импульса в ответ на сенсорный стимул; в аксоне они способствуют распространению нервного импульса; в постсинаптических нейронах такие потенциалы возникают на многочисленных синаптических входах и суммируются, определяя тем самым вероятность генерации ПД в нейроне.

В данном разделе рассмотрено распространение потенциалов по нервным волокнам с постоянным диаметром, т.е. по цилиндрическим проводникам, и в условиях, когда в мембранах не активируются потенциал-зависимые каналы, изменяющие сопротивление мембраны.

6.7.1. Кабельные свойства нервных и мышечных волокон

Нервное волокно состоит из тех же компонентов, что и обычный электрический кабель. Роль проводящей среды в нервном волокне выполняет раствор солей, обладающий плохой проводимостью в отличие от металлических проводников. Мембрана клетки является изолятором, но из-за малой толщины обладает высокой емкостью. Из-за таких электрических особенностей потенциал, приложенный к нервному волокну, распространяется только на незначительное расстояние. С некоторыми упрощениями продольное распространение тока по волокну подчиняется закону Ома, согласно которому ток i , проходя через сопротивление r , создает напряжение $v = ir$.

6.7.1.1. Входное сопротивление и постоянная длины

Прямое электрическое раздражение волокна вызывает потенциал, который пассивно распространяется по волокну, как по кабелю. По мере удаления от места возникновения амплитуда потенциала падает по экспоненциальному закону (рис. 6.14). Эквивалентная электрическая схема мембраны на рисунке 6.15 объясняет падение амплитуды потенциала. Формально мембрана состоит из дискретных контуров c_m - r_m и дискретных продольных сопротивлений r_i . Сопротивление мембраны r_m представляет собой сопротивление стенки цилиндра, а продольное сопротивление r_i соответствует внутреннему сопротивлению участка аксоплазмы между цилиндрами.

По мере увеличения продольного сопротивления (в результате последовательной суммации r_i) ток уменьшается, так как при последовательном соединении сопротивления складываются, и по закону Ома ток будет уменьшаться ($I = U/R$). Поскольку все сопротивления r_m в контуре одинаковы, потенциалы на них будут пропорционально умень-

шаться, так как через них проходит уменьшающийся ток. В результате трансмембранная разность потенциалов уменьшается по мере удаления от источника.

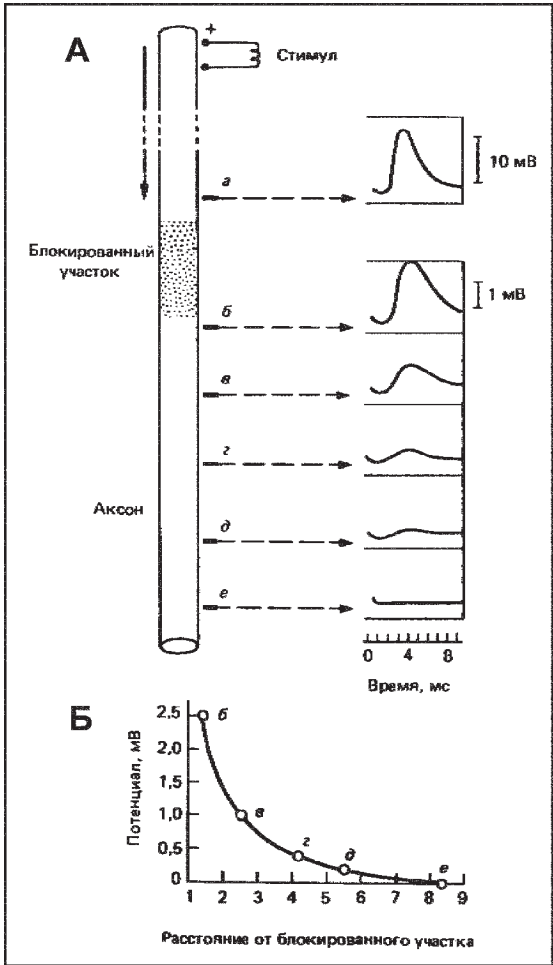


Рис. 6.14. (А) Пассивное распространение возбуждения по аксону кальмара. Участок волокна блокировали локальным охлаждением, чтобы предотвратить генерацию ПД. Потенциал преодолевает блокированный участок, существенно уменьшаясь по амплитуде. При распространении далее по волокну амплитуда потенциала постепенно снижается. (Б) График зависимости амплитуды потенциала от расстояния от блокированного участка.

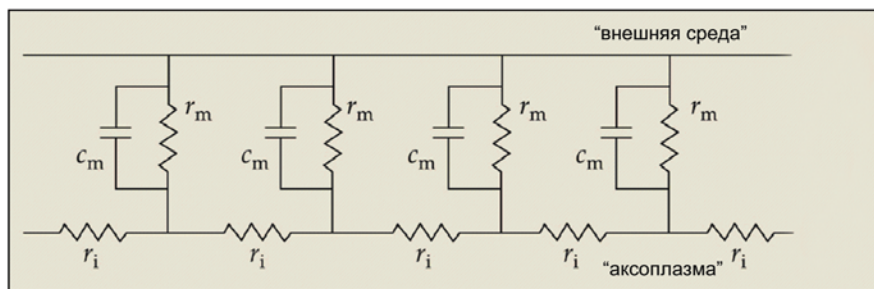


Рис. 6.15. Эквивалентная электрическая схема мембраны. Электрические характеристики локального участка волокна: r_i — внутреннее продольное сопротивление, r_m — поперечное сопротивление, c_m — емкость мембраны.

Падение амплитуды потенциала носит экспоненциальный характер, так что потенциал (V_x) при данном значении расстояния x равен:

$$V_x = V_0 e^{-x/\lambda}$$

Максимальный потенциал V_0 определяется величиной стимулирующего тока. Уменьшение потенциала определяется константой λ , называемой постоянной длины волокна. λ — это расстояние, на котором потенциал снижается в e раз, т.е. до 37% от максимального значения.

6.7.1.2. Сопротивление мембраны и продольное сопротивление

Постоянная длины волокна λ зависит как от r_m , так и от r_i :

$$\lambda = (r_m/r_i)^{1/2}$$

Исходя из формулы, λ возрастает с увеличением сопротивления мембраны, препятствующего утечке тока во внеклеточное пространство, и, напротив, снижается с увеличением внутреннего сопротивления, которое затрудняет продольное протекание тока по аксоплазме.

Еще одна важная кабельная характеристика проводника — входное сопротивление мембраны — также зависит от обоих параметров:

$$r_{input} = 1/2(r_m/r_i)^{1/2}$$

Коэффициент $1/2$ в формуле объясняется тем, что аксон простирается в двух направлениях от места инъекции тока и каждая его половина обладает своими сопротивлениями. Измерив в эксперименте r_{input} и λ , можно рассчитать r_m и r_i .

6.7.1.3. Удельное сопротивление

Рассчитанные значения r_m и r_i , характеризуют сопротивление модельного цилиндрического сегмента аксона длиной 1 см. Однако эти характеристики не предоставляют точной информации о сопротивлении мембраны и аксоплазмы, поскольку последние зависят от размера волокна. Сопротивление мембраны нервного волокна обратно зависит от общего числа ионных каналов, которое определяется их плотностью и площадью поверхности сегмента аксона.

Чтобы сопоставить между собой мембраны разных волокон, нужно знать величину удельного сопротивления R_m , которое отражает сопротивление мембраны площадью 1 см² и измеряется в Ом·см². Отрезок аксона длиной 1 см и радиусом α обладает площадью поверхности $2\pi\alpha$ см². Сопротивление мембраны r_m такого отрезка составляет $R_m/2\pi\alpha$, откуда $R_m = 2\pi\alpha r_m$.

В большинстве типов нейронов R_m определяется главным образом K⁺- и Cl⁻-проводимостями мембраны в покое. Среднее значение R_m аксона омара составляет около 2000 Ом·см². Значения R_m , полученные на других объектах, варьировали в диапазоне от 1000 Ом·см² до 50000 Ом·см² в зависимости от плотности ионных каналов.

Удельным сопротивлением аксоплазмы R_i считают внутреннее продольное сопротивление сегмента аксона длиной 1 см и площадью сечения 1 см².

Поскольку с увеличением площади сечения цилиндра его продольное сопротивление уменьшается, то $r_i = R_i/\pi\alpha^2$, откуда $R_i = \pi\alpha^2 r_i$.

Величина R_i измеряется в Ом·см, и ее значение для аксона кальмара составляет около 30 Ом·см. R_i обратно зависит от концентрации ионов в аксоплазме. У животных с более низкой ионной концентрацией в аксонах R_i составляет около 125 Ом·см (у млекопитающих) и около 250 Ом·см (у земноводных).

6.7.1.4. Влияние диаметра кабеля на его характеристики

На основе уравнений, приведенных выше, можно определить входное сопротивление волокна как:

$$r_{input} = 1/2 (R_m R_i / 2\pi^2 \alpha^3)^{1/2}$$

Следовательно, входное сопротивление волокна снижается как 3/2 степень его радиуса.

Так же постоянная длины волокна λ определяется соотношением его поперечных и продольных удельных сопротивлений (R_m и R_i) и его радиусом α :

$$\lambda = (\alpha R_m / 2R_i)^{1/2}$$

Таким образом, λ возрастает с увеличением радиуса. Измеряя сопротивления и радиусы разных волокон, можно сопоставить их кабельные свойства. Так, значения постоянной длины волокна аксона кальмара (диаметром до 1 мм), мышечного волокна лягушки (диаметром 50 мкм) и нервного волокна млекопитающих (диаметром 1 мкм) составляли, соответственно, 13, 1,4 и 0,3 мм.

Итак, кабельные свойства проводника r_{input} и λ определяют амплитуду сигнала, генерируемого нервным волокном, и его декремент с расстоянием. Например, при равных условиях синаптического воздействия величина ВПСП в тонком дендрите (с более высоким r_{input}) будет больше, чем в толстом. С другой стороны, в толстом дендрите из-за большего значения λ потенциал будет меньше затухать с расстоянием, чем в тонком.

6.7.1.5. Постоянная времени

Мембрана обладает свойством емкости, накапливая заряд на своей внешней и внутренней поверхности. Как у конденсатора, два слоя жидкости по обе стороны мембраны являются обкладками, а сама мембрана представляет собой изолирующую прослойку. При толщине мембраны 5 нм она способна накапливать достаточно большой заряд. Обычно емкость мембраны нервных клеток составляет 1 мкФ/см². Емкость мембраны приводит к тому, что фаза роста амплитуды потенциала, возникающего на мембране в результате приложения к ней тока, развивается по экспоненте в соответствии с уравнением:

$$Vt = V_0(1 - e^{-t/\tau}),$$

где t — время от начала импульса, V_t — амплитуда потенциала в момент времени t , V_0 — максимальная амплитуда потенциала, τ — постоянная времени, равная произведению удельного сопротивления и удельной емкости мембраны ($R_m C_m$). Постоянная времени отражает время, за которое потенциал достигает 63% ($1 - 1/e$) от максимального значения амплитуды. Спад потенциала после выключения также происходит по экспоненте с той же постоянной времени.

Постоянная времени мембраны не зависит от размера клетки или волокна. Увеличение радиуса (и площади поверхности мембраны) приводит не только к увеличению удельной емкости, но и к

снижению удельного сопротивления мембраны. При такой обратной зависимости этих параметров от размера волокна τ , как их произведение, $(R_m C_m)$ не меняется. Постоянная времени, наряду с входным сопротивлением и постоянной длины, является параметром, от которого зависят свойства аксона как проводника. Диапазон значений постоянной времени в различных типах нервных и мышечных клеток составляет от 1 до 20 мс.

Емкость мембраны приводит к замедлению поляризации мембраны в результате действия на нее тока. Поскольку при параллельном соединении мембранных модулей их суммарная емкость увеличивается, то по мере удаления от места раздражения время заряда емкости также увеличивается. Поэтому чем дальше от места раздражения развивается потенциал, тем τ больше, и фазы роста и спада потенциалов замедляются.

Еще одно существенное влияние мембранной емкости на потенциалы заключается в том, что кратковременные токи, активирующие мембрану, распространяются на более короткие расстояния, чем длительные. В случае продолжительного сигнала потенциал достигает своего максимального значения и емкость заряжается полностью. В результате пространственное распределение потенциала определяется только сопротивлениями мембраны и цитоплазмы ($V_x = V_0 e^{-x/\lambda}$). При действии коротких сигналов (например, синаптический потенциал) ток прекращается еще до того, как емкость успеет полностью зарядиться. Это выражается в уменьшении расстояния, на которое потенциал распространяется вдоль волокна.

6.7.2. Влияние кабельных свойств на возбудимость нейронов

Кабельные свойства нейронов и их отростков во многом определяют их реакции на синаптические воздействия. Величина порогового тока у разных нейронов варьирует в широком диапазоне — 10^{-7} - 10^{-10} А. Оказалось, что величина порогового тока обратно зависит от входного сопротивления мембраны нейрона. Зависимость порогового тока от сопротивления описывается гиперболой (рис. 6.16), из чего следует, что пороговый ток определяется входным сопротивлением, а пороговый потенциал является постоянным для электровозбудимых мембраны нейронов. Таким образом, эффективность синапсов, вызывающих токи в мембранах, зависит от входного сопротивления дендрита.

Входное сопротивление волокна увеличивается с уменьшением его радиуса, что было подтверждено специальными измерениями (рис. 6.17).

Из этого следует, что более тонкие дистальные дендриты обладают большим входным сопротивлением и, соответственно, меньшие токи могут сдвигать мембранный потенциал к пороговому уровню генерации ПД. Поэтому эффективность синапсов, активирующих дистальные дендриты, может значительно превышать эффективность синапсов на близких к соме дендритах. Из этого также следует важный вывод о том, что синаптические влияния на мелкие нейроны больше, чем на крупные.

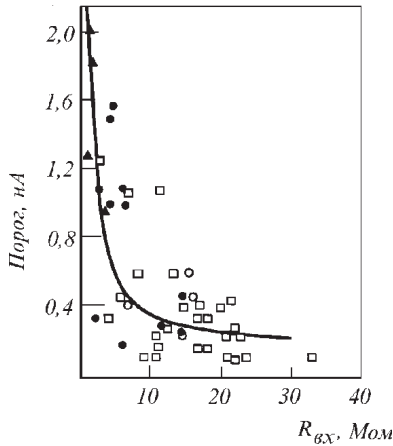


Рис. 6.16. График зависимости порога возбуждения мембран нейронов моторной коры кошки от входного сопротивления. Экспериментальные точки аппроксимированы методом наименьших квадратов.

6.7.3. Проведение потенциалов по сложным нейронным отросткам

Самой простой моделью нейрона является гипотетический сферический нейрон, который представлен множеством параллельно соединенных **RC**-элементов (рис. 6.18). Все участки в такой модели включены параллельно, поскольку сопротивление цитоплазмы и внешней среды пренебрежимо мало по сравнению с сопротивлением мембраны. Принимая во внимание такое упрощение, эквивалентная электрическая схема сферического нейрона совпадает со схемой единичного элемента мембраны. При стимуляции такого простого **RC**-элемента потенциал на мембране будет изменяться по экспоненте с постоянной времени $\tau = RC$.

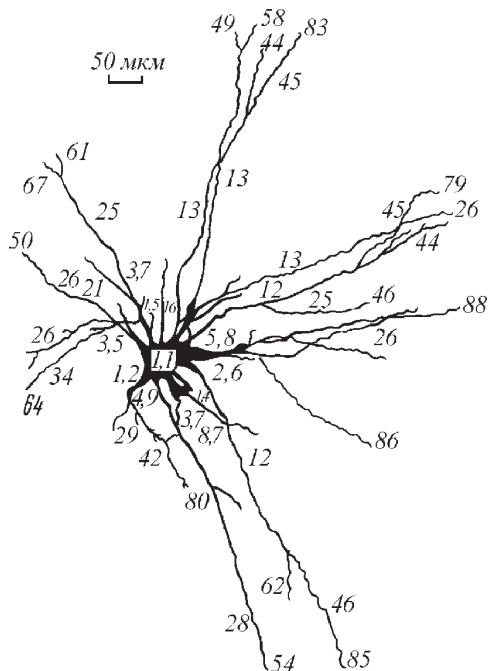


Рис. 6.17. Входные сопротивления в теле и дендритах мотонейрона кошки. Числа указывают входное сопротивление (мОм) при удельном сопротивлении мембраны $50 \text{ Ом} \cdot \text{см}$.

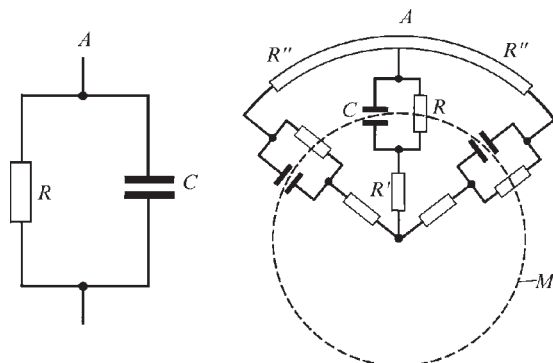


Рис. 6.18. Эквивалентная электрическая схема элемента мембраны (А) и сферического нейрона. C — емкость мембраны, R — сопротивление мембраны, R' — сопротивление протоплазмы R'' — сопротивление наружной среды, M — мембрана. У шаровидной клетки R' и $R'' \ll R$.

В действительности в реальных нейронах потенциалы имеют значительно более сложную конфигурацию. В реальных нейронах проведение потенциалов определяется большим числом дополнительных параметров: неоднородность внеклеточной среды, сложная конфигурация дендритов, вариации их размера, наличие разных синапсов, активирующих лиганд-зависимые каналы и метаботропные рецепторы, наличие разных потенциал-зависимых проводимостей и проч.

Такое число факторов затрудняет (или делает невозможным) анализ проведения возбуждения по таким сложным нервным волокнам. Особенности проводимости потенциалов обычно исследуют с использованием упрощенных моделей. Одной из таких моделей является модель Ролла с дихотомическим ветвлением дендритов, которая учитывает относительно сложную конфигурацию нейронных волокон (рис. 6.19). Слои дихотомического дендритного дерева формируют последовательно соединенные ячейки с условием, что диаметры дендритов в каждой ячейке удовлетворяют уравнению $\Sigma d_i^{3/2} = \text{const}$. Каждая ячейка представляет собой электрический модуль, включающий мембранную емкость, источники возбуждательных и тормозных синаптических влияний, а также потенциал покоя. По модели рассчитывали ВПСП сомы нейрона при разном удалении места стимуляции. Оказалось, что чем дальше удалены активируемые синапсы от сомы нейрона, тем медленнее развивались потенциалы, а их амплитуда существенно падала.

Такие модельные представления нашли свое подтверждение в исследованиях ВПСП, регистрируемых в мотонейронах спинного мозга кошки (рис. 6.20). Амплитуда ВПСП, вызванных стимуляцией ближних дендритов, нарастала быстрее и была больше, чем амплитуда ВПСП при стимуляции дистальных дендритов.

6.8. Механизм генерации потенциала действия

6.8.1. Натриевая гипотеза генерации потенциала действия

Согласно теории Ю. Бернштейна, при возбуждении клетки ее мембрана повреждается, и ионы K^+ вытекают из клетки по концентрационному градиенту до тех пор, пока потенциал мембраны не становится равным нулю. Затем мембрана восстанавливает свою целостность, и потенциал возвращается к уровню ПП.

Частичное подтверждение теория Ю. Бернштейна получила в результате исследований возбудимости клеточных мембран, выполненных в 1930-х г.г. К. Коулом и Х. Куртисом. Авторы сделали фундамен-

тальное открытие, заключающееся в том, что во время развития ПД в мембране аксона кальмара существенно падает сопротивление мембраны (от 1000 до 25 $\text{ом}\cdot\text{см}^2$), и, соответственно, возрастает проводимость. Такое большое возрастание проводимости указывало на то, что при возбуждении через мембрану текут токи, переносимые ионами.

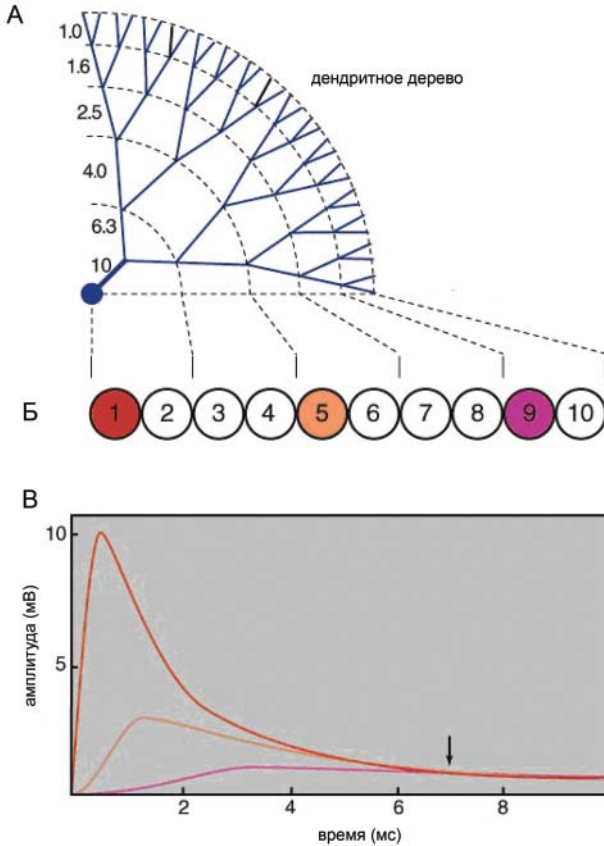


Рис. 6.19. (А) Модель нейрона с дендритами (модель Ролла), числа слева — диаметры дендритов в условных единицах модели. (Б) На схеме показано формальное преобразование слоев дендритов в эквивалентную цепь одинаковых «ячеек». В модели ВПСП «регистрировали» в соме (отсек 1). (В) Графики отражают расчетные ВПСП сомы нейрона при «синаптической стимуляции» 1, 5 и 9 отсеков. Несмотря на различия в начальной фазе, все ВПСП сливаются на нисходящей фазе (отмечено стрелкой).

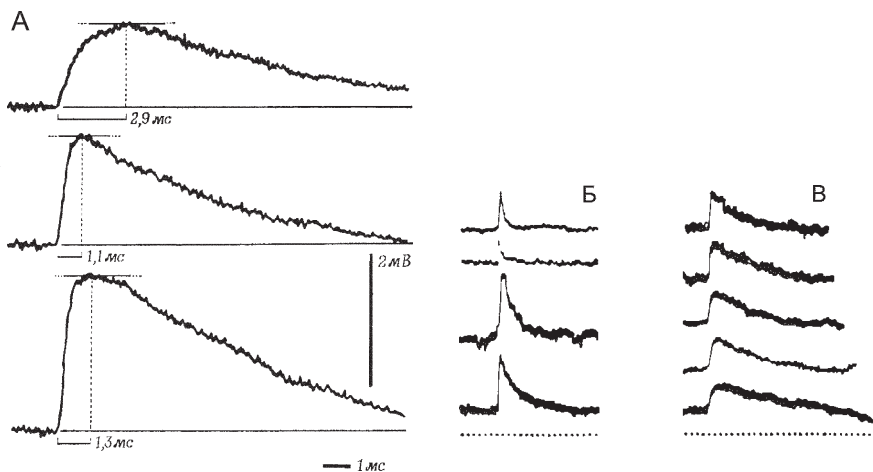


Рис. 6.20. (А) Примеры ВПСП мотонейрона спинного мозга кошки в ответ на стимуляцию разных дендритов ВПСП. Числа указывают время нарастания ВПСП. (Б) ВПСП на стимуляцию ближних и (В) дальних дендритов.

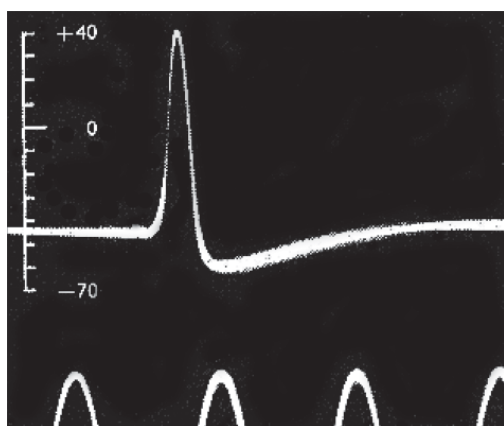


Рис. 6.21. Первая иллюстрация потенциала действия из оригинальной работы А. Ходжкина и А. Хаксли.

Дальнейшие исследования возбудимости мембраны аксонов кальмара, выполненные А. Ходжкиным и А. Хаксли, показали, что на максимуме ПД действия мембрана не разряжается до нуля, а заряжается положительно относительно окружающей среды (рис. 6.21). Оказалось, что амплитуда ПД зависела от концентрации ионов Na^+ во внеклеточ-

ном растворе, в который помещали аксон во время записи биоэлектрической активности (рис. 6.22). На основании своих результатов авторы высказали предположение, что ПД является результатом кратковременного, но значительного увеличения проводимости мембраны для Na^+ . Концентрация ионов Na^+ во внеклеточной среде примерно в 10 раз выше, чем внутри клетки (табл. 6.1), поэтому E_{Na^+} составляет 50-60 мВ. Абсолютное значение потенциала на вершине ПД в экспериментах А. Ходжкина и А. Хаксли находилось в этих пределах. Это означает, что амплитуда ПД определяется равновесным потенциалом для Na^+ и описывается уравнением Нернста для Na^+ -электрода:

$$E_{\text{Na}^+} = \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Na}^+]_{\text{out}}}{[\text{Na}^+]_{\text{in}}},$$

где $[\text{Na}^+]_{\text{in}}$ и $[\text{Na}^+]_{\text{out}}$ — концентрации Na^+ , соответственно, внутри клетки и в окружающей среде.

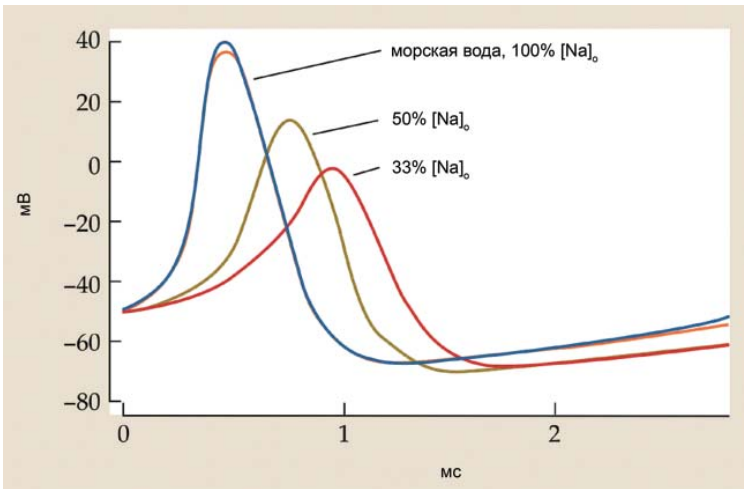


Рис. 6.22. Зависимость амплитуды ПД от концентрации Na^+ $[\text{Na}^+]_0$ во внеклеточном растворе. Числами указано разведение исходного (100%) раствора.

Реполаризация мембраны происходит за счет кратковременного увеличения K^+ -проводимости из аксона в раствор по концентрационному градиенту. Чтобы доказать, что в основе ПД лежат изменения проводимостей для Na^+ и K^+ , необходимо напрямую измерить эти показатели. Однако, чтобы решить эту задачу, необходимо преодолеть две проблемы. Во-пер-

вых, токи, протекающие через мембрану, приводят к изменению мембранного потенциала, что в свою очередь вызывает изменения проводимостей. Эта проблема была решена при использовании методики фиксации потенциала, разработанной К. Коулом. При неизменном уровне потенциала токи будут отражать изменения проводимости мембраны. Во-вторых, чтобы исследовать токи Na^+ и K^+ в отдельности, их надо разделить. В ранних исследованиях Na^+ во внешнем растворе заменяли на катион большого размера (холин), не проникающий через мембрану. Затем стали использовать селективные блокаторы для каждого канала.

6.8.2. Методика фиксации потенциала

Принцип работы электрической схемы для фиксации потенциала заключается в следующем. Разность потенциалов по разные стороны мембраны мгновенно фиксируется с помощью электронной системы с обратной связью (рис. 6.23). При этом потенциал можно ступенчато изменять на любую величину. Метод позволяет измерять ионные токи, протекающие через мембрану через каналы, которые активируются при изменении потенциала. В соответствии с законом Ома, при постоянном напряжении на мембране изменения тока однозначно связаны с изменениями проводимости, которые в свою очередь связаны с процессами открытия и закрытия ионных каналов.

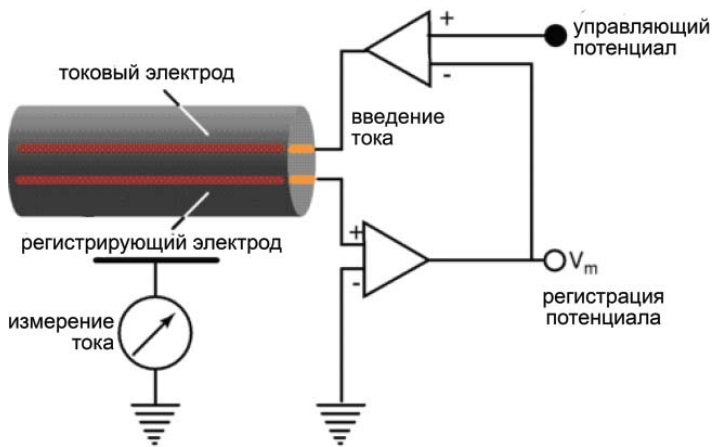


Рис. 6.23. Электрическая схема для фиксации потенциала в мембране гигантского аксона кальмара. Объяснения в тексте.

При помощи усилителя-регулятора внутриклеточный потенциал сравнивают с управляющим потенциалом. Отклонение мембранного

потенциала от управляющего усиливается, и на выходе усилителя возникает управляющий ток. Этот ток течет через электроды, расположенные по разные стороны мембраны, в том направлении, при котором мембранный потенциал вновь становится равным управляющему.

В ответ на ступенчатую деполяризацию открываются натриевые (или какие-либо другие) каналы, соответствующие ионы входят в аксон по электрохимическому градиенту и переносят с собой электрические заряды. Эти заряды сдвигают мембранный потенциал в сторону деполяризации, однако это отклонение компенсируется в результате удаления из клетки избыточных зарядов с помощью усилителя-регулятора. При этом регистрируется ток, который подается усилителем для поддержания мембранного потенциала на необходимом уровне. Этот противоположный по знаку ток равен по абсолютной величине ионному току, протекающему через мембрану.

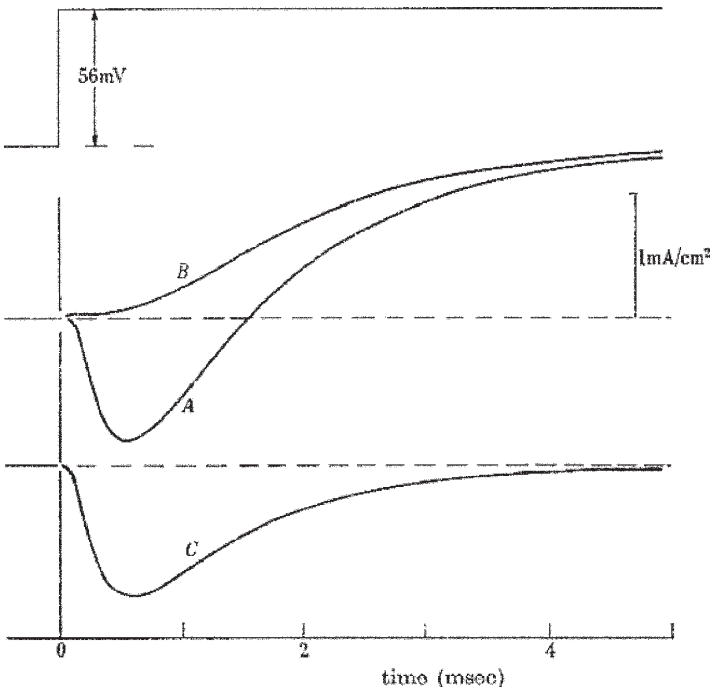


Рис. 6.24. Ионные токи, протекающие через мембрану при генерации ПД (оригинальные иллюстрации из работы А. Ходжкина и А. Хаксли). А — общий ток, В — выходящий ток, С — входящий ток (получен путем вычитания выходящего тока из общего).

6.8.3. Ионные токи во время генерации ПД в аксоне кальмара

Методом фиксации потенциала в 1952 г. А. Ходжкин, А. Хаксли и Б. Катц впервые измерили ионные токи, проходящие через мембрану во время возбуждения (рис. 6.24). В нормальных условиях, когда аксон погружен в морскую воду, при деполяризации мембраны регистрируется ток, состоящий из раннего входящего и позднего выходящего компонентов (рис. 6.24, А). При замене Na^+ во внешнем растворе на ионы холина входящий компонент тока исчезает, и регистрируется только выходящий ток (рис. 6.24, В). Входящий ток получен путем вычитания выходящего тока из общего (рис. 6.24, С). На основании таких результатов авторы сделали вывод о натриевой природе входящего тока.

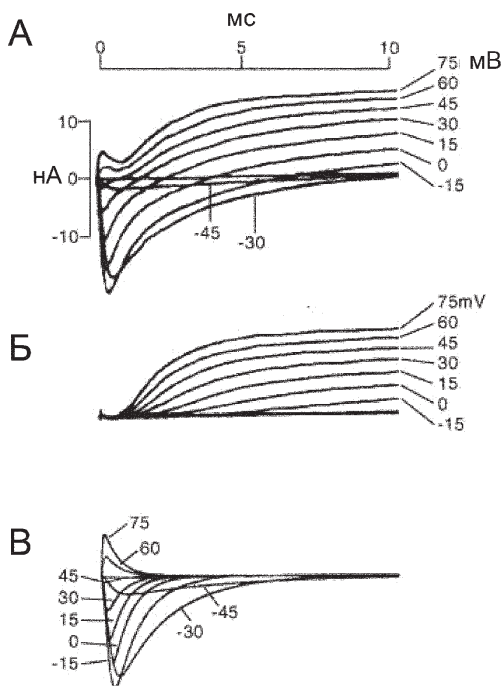


Рис. 6.25. Фармакологическое разделение входящих и выходящих токов при генерации ПД. (А) В контроле конфигурация суммарных токов зависит от уровня фиксированного потенциала (отмечено числами справа, мВ), по мере деполяризации мембраны уменьшается входящий и увеличивается выходящий компоненты тока. (Б) Применение ТТХ (блокатора Na^+ -проводимости) устраняет входящий компонент. (В) Применение ТЕА (блокатора K^+ -проводимости) устраняет выходящий компонент.

Позже эксперименты с использованием специфических блокаторов ионных каналов подтвердили такие результаты (рис. 6.25). Так, при использовании тетродотоксина (ТТХ, блокатора Na^+ -проводимости) во внешнем растворе входящий компонент исчезал, в то время как выходящий регистрировался (рис. 6.25, Б). Напротив, при использовании тетраэтиламмония (ТЕА, блокатора K^+ -проводимости), перфузированного внутрь аксона, исчезал выходящий компонент (рис. 6.25, В). На основании таких результатов был сделан вывод о калиевой природе выходящего тока.

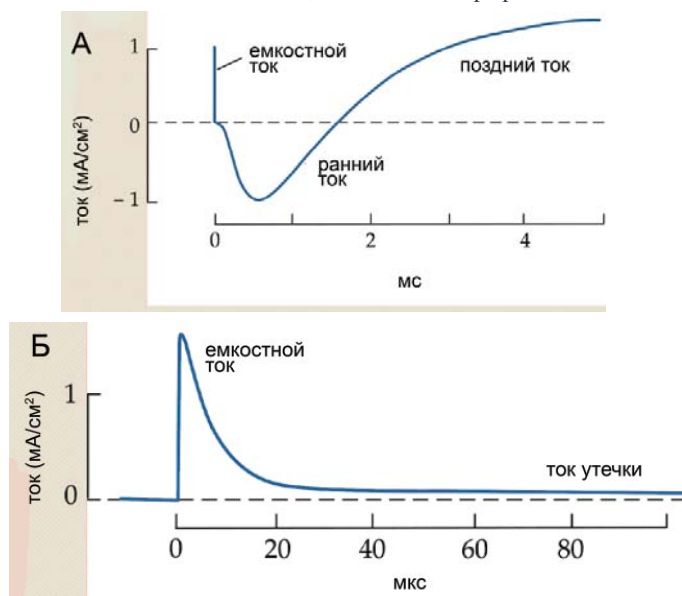


Рис. 6.26. (А) Емкостной ток и ток утечки на фоне высокоамплитудных потенциал-зависимых токов и (Б) в отдельности (в другом масштабе по оси времени).

Необходимо отметить, что первоначальный кратковременный ток выходящего направления представляет собой емкостной ток, обусловленный изменением заряда мембранной емкости (рис. 6.26). Продолжительность этого тока составляет около 20 мкс. Этот ток сменяется небольшим по амплитуде, но устойчивым током выходящего направления. Этот ток связывают с проводимостью через каналы утечки (главным образом K^+ -каналы), имеющей место при ПП. Ток утечки в аксоне кальмара имеет малую амплитуду и при возбуждения аксона маскируется высокоамплитудными потенциал-зависимыми токами. На других исследованных объектах (в мембране перехвата Ранвье миелини-

зированных аксонов позвоночных) величина тока утечки сопоставима с величиной потенциал-активируемого выходящего K^+ -тока.

6.8.4. Инактивация натриевой проводимости

Как показали исследования токов при деполяризации мембраны аксона, входящий Na^+ достигает своего максимума через 0,5 мс и в последующие 3 мс спадает до нуля, несмотря на то, что мембрана еще деполяризована. Быстрый спад Na^+ -тока называют инактивацией Na^+ -проводимости.

Используя методику фиксации потенциала, А. Ходжкин и А. Хаксли количественно исследовали процесс инактивации Na^+ -проводимости. Они исследовали влияние де- и гиперполяризации мембраны на амплитуду Na^+ -токов (рис. 6.27). Относительно продолжительная (около 30 мс) гиперполяризация (кондиционирующий стимул) перед деполяризующим тестовым толчком вызывают увеличение амплитуды Na^+ -тока (рис. 6.27, А, б) по сравнению с деполяризацией, применяемой при ПП (рис. 6.27, А, а). Деполяризующие кондиционирующие стимулы снижают амплитуду Na^+ -тока (рис. 6.27, А, в, г). Количественная выраженность инактивации натриевой проводимости представлена на рисунке 6.27 (Б). При кондиционирующей деполяризации около -30 мВ Na^+ -ток почти равен нулю (полная инактивация). Кондиционирующая гиперполяризация до -95 мВ и ниже вызывает существенное (на 70%) увеличение Na^+ -тока. В мембране аксона кальмара инактивация при ПП составляла почти 40% от максимального значения. Инактивация Na^+ -каналов при ПП и деполяризации мембран характерна для всех нейронов.

6.8.5. Воротные механизмы потенциал-зависимых Na^+ -каналов

А. Ходжкин и А. Хаксли предположили, что активация Na^+ -каналов связана с открыванием специальных «ворот», представляющих собой заряженные частицы (диполи). Они исследовали амплитуду емкостного тока (рис. 6.28, А) при деполяризации и гиперполяризации. Токи, обусловленные процессами зарядки и разрядки емкости мембраны, должны быть симметричными, т.е. разными по знаку и равными по абсолютной величине. Токи, связанные с активацией Na^+ -ворот, должны генерироваться только при включении и выключении деполяризующего, но не гиперполяризующего скачка потенциала. Токи в ответ на деполяризацию (рис. 6.28, А, а) по абсолютной амплитуде оказались больше токов в ответ на гиперполяризацию (рис. 6.28, А, б). При сложении этих токов был получен воротный ток (рис. 6.28, А, в), который отражает поворот воротной частицы (диполя). Чтобы исключить воротный ток, связанный с выходящим K^+ -током, K^+ -каналы заблокировали ТЕА.

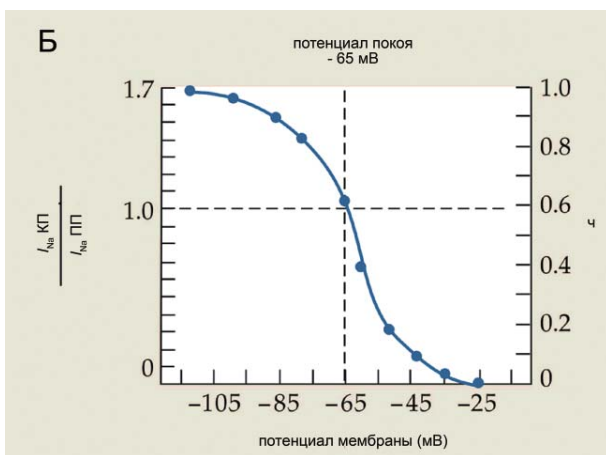
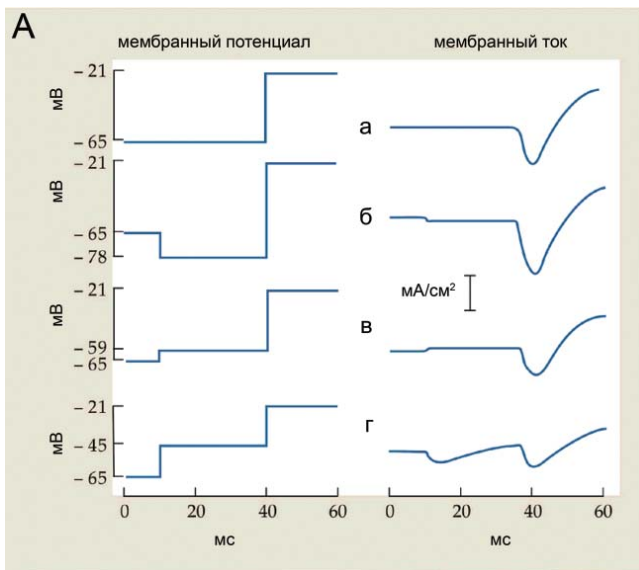


Рис. 6.27. (А) Влияние мембранного потенциала на амплитуду Na⁺-тока. (а) Ток при ПП. (б) Увеличение тока после кондиционирующей гиперполяризации. (в, г) Уменьшение тока после кондиционирующей деполяризации. (Б) Зависимость пронормированного Na⁺-тока ($I_{Na,КП} / I_{Na,ПП}$), КП — кондиционирующая поляризация, ПП — потенциал покоя) от уровня кондиционирующей поляризации. Шкала справа отражает степень инактивации Na⁺-тока (h , доля неинактивированных Na⁺-каналов), «0» — полная инактивация, «1» — отсутствие инактивации.

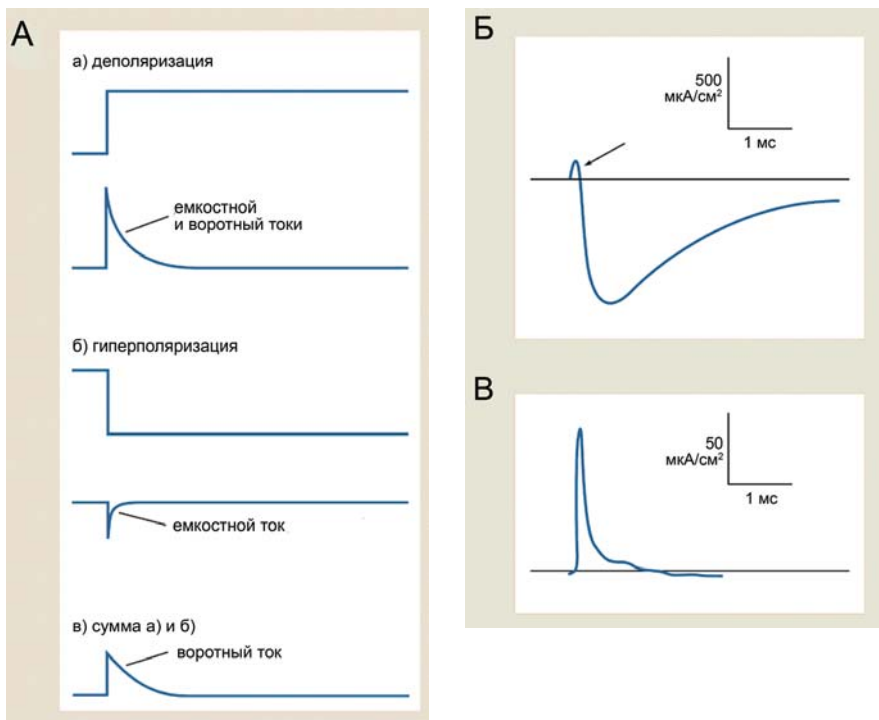


Рис. 6.28. Воротные токи. (А) В условиях пониженной концентрации ионов Na^+ в ответ на деполяризацию регистрируется малый по амплитуде выходящий ток, отражающий заряд мембранной емкости (а). В ответ на гиперполяризацию этот емкостной ток меньше, чем в ответ на деполяризацию такой же амплитуды (б). Разность этих токов (воротный ток, или асимметричный ток смещения) соответствует перемещению зарядов, например, повороту диполя (в). (Б) Воротный ток маскируется входящим Na^+ -током большой амплитуды. (В) Воротный ток отчетливо выделяется при ТТХ блокаде Na^+ -тока.

Из результатов по исследованию инактивации Na^+ -проводимости следует, что инактивация каналов является самостоятельным процессом. Последующие эксперименты с введением протеолитических (разрушающих белки) ферментов внутрь аксона показали замедление и дальнейшее исчезновение инактивации Na^+ -каналов. Использование этих ферментов с наружной стороны мембраны не вызывало устранения инактивации. Предположительно, эти ферменты разрушили часть белковой молекулы канала, отвечающей за инактивацию.

6.8.6. Основные состояния натриевых каналов (цикл А. Ходжкина)

На основании результатов по исследованию Na^+ -токов А. Ходжкин и А. Хаксли сформулировали представления об изменении состояния Na^+ -каналов во время возбуждения мембраны. В покое (мембрана не деполяризована) канал не пропускает Na^+ , поскольку закрыты m -ворота (рис. 6.29, Б, I). При деполяризации открываются активационные m -ворота, канал активируется и пропускает Na^+ (рис. 6.29, Б, II) При длительной деполяризации закрываются инактивационные h -ворота, расположенные у внутренней стороны мембраны, канал инактивируется и перестает пропускать Na^+ (рис. 6.29, Б, III). Реполяризация мембраны до уровня ПП вновь приводит к открытию h -ворот и закрытию m -ворот, и цикл повторяется.

В цикле Ходжкина доли открытых m - и h -ворот реципрокно изменяются в зависимости от потенциала мембраны (рис. 6.29, А). При деполяризации примерно от -50 мВ и выше доля открытых m -ворот резко увеличивается, достигая уровня 50% при -30 мВ (отмечено пунктиром), однако в это время доля открытых h -ворот уменьшается до 0. Такая модель объясняет кратковременный характер входящего Na^+ -тока.

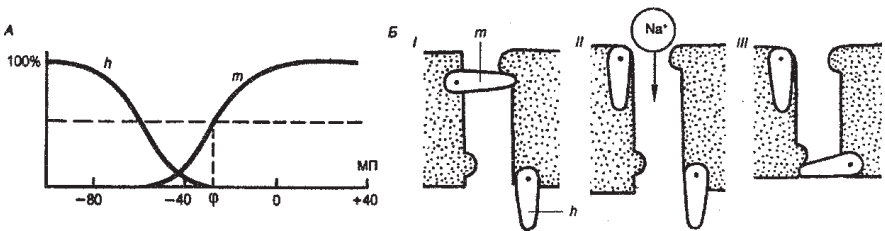


Рис. 6.29. (А) Зависимость состояния m - и h -ворот потенциал-зависимых Na^+ -каналов от мембранного потенциала (МП). (Б) Схематическое изображение цикла А. Ходжкина. Объяснения в тексте.

6.8.7. Рефрактерный период

Во время генерации ПД в мембране происходят два процесса, из-за которых в нейроне или аксоне невозможно вызвать повторный ПД: (1) в начале нисходящей фазы ПД в мембране достигает максимума инактивация Na^+ -проводимости, и для ее устранения необходимо несколько миллисекунд; (2) активируются потенциал-зависимые K^+ -каналы, обес-

печивающие быструю реполяризацию мембраны. Эти два процесса приводят мембрану в состояние абсолютной рефрактерности, которое поддерживается в течение фазы спада ПД и характеризуется тем, что никакая деполяризация мембраны в этот период не способна запустить ПД (рис. 6.30). Период абсолютной рефрактерности сменяется периодом относительной рефрактерности, в ходе которого порог постепенно снижается до нормального значения. В этот период устраняется Na^+ -инактивация и потенциал-зависимая K^+ -проводимость. Абсолютный рефракторный период ограничивает максимальную частоту генерации ПД в нейронах и волокнах, препятствуя нарушению ионного баланса между клеткой и внеклеточной средой.

Эти результаты А. Ходжкина и А. Хаксли имеют фундаментальное значение для физиологии возбудимых мембран. Сделанные ими открытия представляют собой общий механизм регуляции состояния возбудимых мембран, способствующий восстановлению электрохимических градиентов, необходимых для нормального функционирования нейронов.

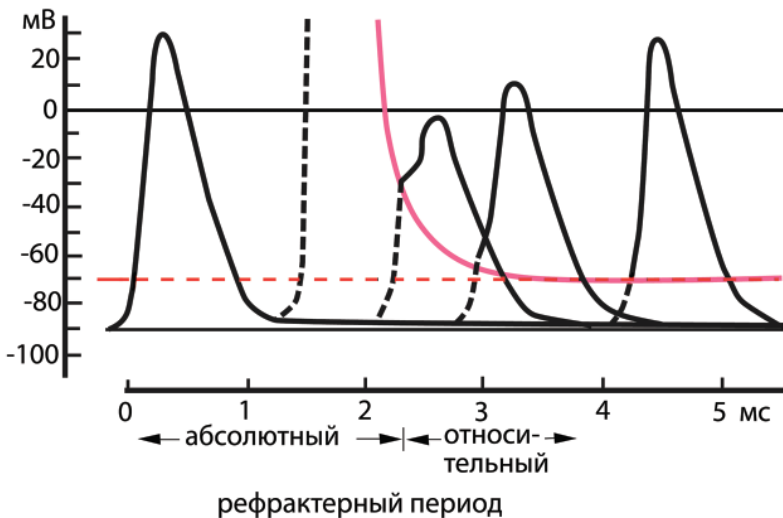


Рис. 6.30. Периоды рефрактерности нерва во время и после возбуждения. В нерве млекопитающего вызывают ПД (слева), затем нерв стимулируют с разными интервалами. Сплошной красной линией показан пороговый уровень ПД, а черным пунктиром — деполяризация волокна стимулом до порогового уровня. В абсолютном рефрактерном периоде волокно невозбудимо, в относительном — порог его возбуждения превышает уровень в норме.

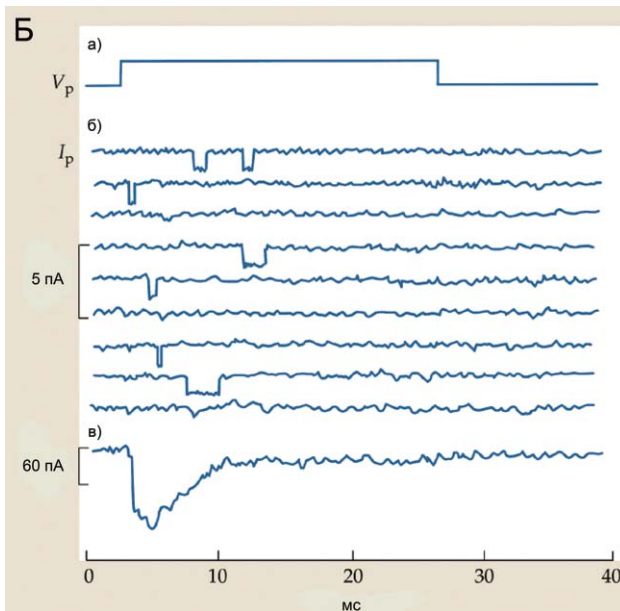
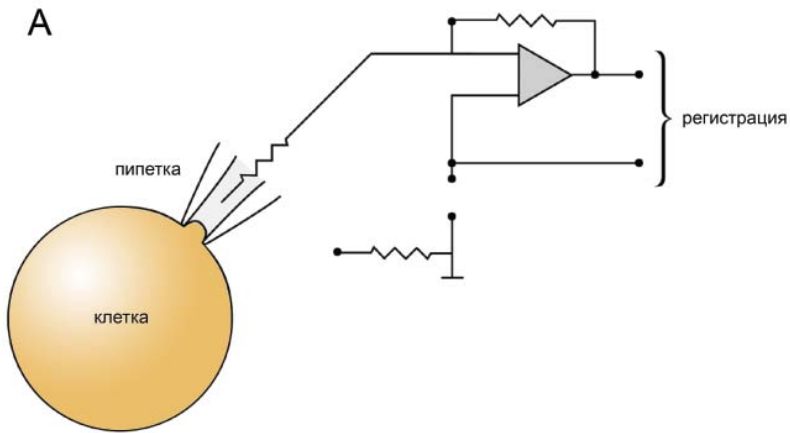


Рис. 6.31. (А) Принципиальная схема метода локальной фиксации. (Б) Входящие токи, проходящие через одиночные Na^+ -каналы. Деполаризация локального участка мембраны клетки (а, V_p) приводит к кратковременному открыванию Na^+ -канала и к генерации входящего токов (б, I_p). Сумма таких токов сходна с Na^+ -макротоком мембраны аксона (в), отражающим срабатывание многих каналов в ответ на деполаризующий стимул.

6.8.8. Исследование ионных токов методом локальной фиксации

Для регистрации ионных токов, проходящих через отдельные каналы, была разработана методика локальной фиксации мембраны клетки. Для этой цели используют тонкие пипетки с диаметром около 1 мкм, которые тесно соприкасаются с клеточными мембранами (рис. 6.31, А). Высокое сопротивление такого контакта позволяет регистрировать слабые токи, проходящие через фрагмент мембраны, контактирующий с кончиком пипетки. Открытие и закрытие ионных каналов отражаются в виде прямоугольных токовых сигналов (рис. 6.31, Б). Свойства макротоков, впервые зарегистрированных в аконе кальмара, в дальнейшем были выявлены для токов отдельных каналов. Амплитуда токов, проходящих через отдельные Na^+ -каналы, так же, как амплитуда макротоков, зависела от мембранного потенциала. Кроме того, от мембранного потенциала зависела вероятность открытия каналов, отражая состояние *m*- и *h*-ворот. Деполяризация участка мембраны клетки приводит к кратковременному открыванию Na^+ -канала. Сумма таких токов сходна с Na^+ -макротоком мембраны аксона, отражающим срабатывание многих каналов в ответ на деполяризующий стимул.

6.8.9. Проницаемость Na^+ через канал

Б. Хилле исследовал проницаемость Na^+ -канала для различных щелочных металлов и органических катионов. Он определил размер Na^+ -канала 0,3х0,5 нм и пришел к выводу, что Na^+ -связывающий участок канала окружен кольцом атомов кислорода, входящих в состав гидроксильных групп мембранного белка.

Селективность канала зависит не только от размеров проникающих ионов, но и от их способности образовывать водородные связи. Б. Хилле сравнивал проницаемости трех ионов: гидроксиламмония ($\text{H}_3\text{N}^+\text{-OH}$), гидразиния ($\text{H}_3\text{N}^+\text{-NH}_2$) и метиламмония ($\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}_3$). Радиусы гидроксильной, амино- и метильной групп примерно одинаковы и составляют 0.37-0.38 нм, однако проницаемость $\text{H}_3\text{N}^+\text{-OH}$ оказалась в 100 раз выше, чем для $\text{H}_3\text{N}^+\text{-CH}_3$. Такие различия объясняются тем, что метильные группы не образуют водородных связей. Длина водородной связи 0.08 нм, поэтому через канал проникают ионы размером не более 0.30 нм. На основании своих данных Б. Хилле заключил, что ионы проникают через канал не путем простой диффузии, а в результате последовательной дегидратации и связывания с компонентами канала.

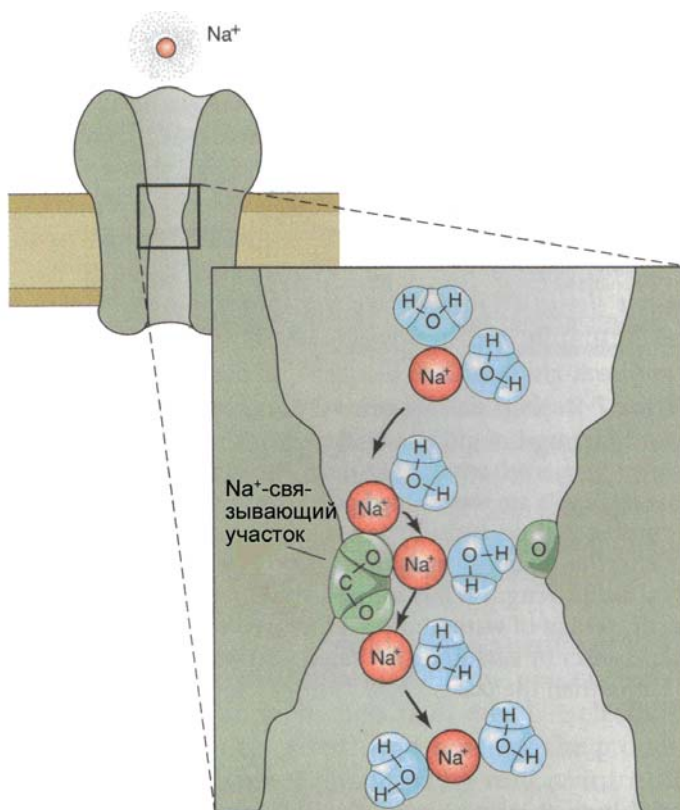


Рис. 6.32. Прохождение иона Na^+ через канал. В области Na^+ -связывающего участка гидратированный ион Na^+ частично или полностью дегидратируется. Пройдя через селективный фильтр в наружном устье канала, ион вновь гидратируется.

В области селективного фильтра (Na^+ -связывающего участка) гидратированный ион Na^+ частично или полностью дегидратируется из-за образования водородных связей гидратной оболочки с атомами кислорода входящих в состав гидроксильных групп (рис. 6.32). Избирательность каналов к ионам определяется стерическими (пространственными) свойствами селективного фильтра и составом химических групп, обеспечивающих электростатическое взаимодействие канала с данным типом иона. Пройдя через селективный фильтр в наружном устье канала, ион вновь гидратируется.

Канал является именно порой, и Na^+ транспортируется через канал без какого-либо переносчика, так как переносчик способен транспортировать ионы со скоростью $\sim 10^4 \text{ c}^{-1}$, а скорость диффузии через Na^+ -канал составляет $\sim 10^7\text{-}10^8 \text{ c}^{-1}$.

6.8.10. Мультиионная природа токов в мембранах нейронов

Исследование молекулярных механизмов возбудимости в мембранах нейронов стало возможным после разработки специальных методов, позволяющих исследовать мембраны таких миниатюрных объектов. В 1960-х г. под руководством П. Г. Костюка был разработан метод внутриклеточного диализа, позволяющий регистрировать токи, проходящие через мембраны нейронов. С использованием этого метода в мембранах нейронов беспозвоночных (виноградной улитки) были описаны потенциал-зависимые Na^+ - и K^+ -токи, аналогичные токам в мембранах гигантского аксона кальмара. Кроме того, используя специфические блокаторы, удалось идентифицировать еще один входящий ток, переносимый ионами Ca^{2+} , и дополнительный K^+ -ток, который, в отличие от «классического» аксонного тока, медленно активировался и медленно инактивировался (рис. 6.33). Позже эти токи были зарегистрированы и в мембранах морского моллюска *Aplisia*.

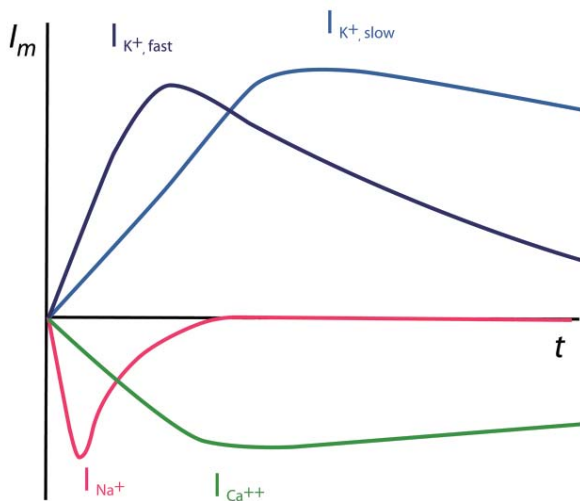


Рис. 6.33. Схематическое изображение токов, зарегистрированных в мембранах нейронов виноградной улитки. Выделены два входящих (быстрый Na^+ -ток и медленный Ca^{++} -ток) и два выходящих тока (быстрый $I_{\text{K}^+, \text{fast}}$ и задержанный $I_{\text{K}^+, \text{slow}}$).

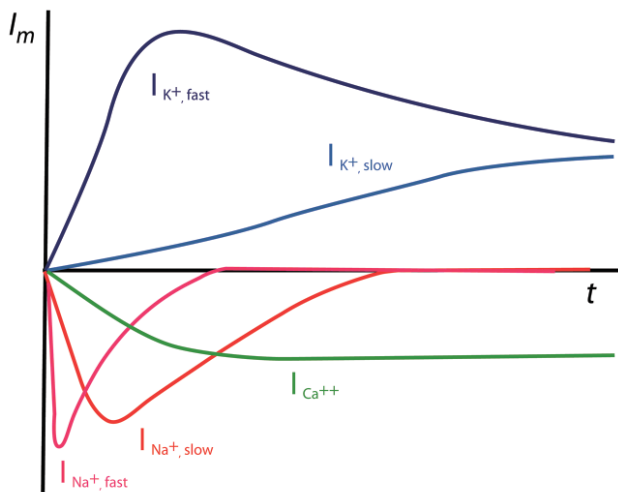


Рис. 6.34. Схематическое изображение токов, зарегистрированных в мембранах нейронов позвоночных. Выделены три входящих (быстрый $I_{Na^+, fast}$ и медленный $I_{Na^+, slow}$, медленный $I_{Ca^{++}}$) и два выходящих тока (быстрый $I_{K^+, fast}$ и задержанный $I_{K^+, slow}$). Медленный Na^+ -ток, в отличие от быстрого, оказался нечувствительным к ТТХ.

Кроме токов, обнаруженных в нейронах моллюсков, в мембранах более мелких нейронов позвоночных был зарегистрирован дополнительный Na^+ -ток, который не блокировался ТТХ и обнаруживался у 10–15% изученных нейронов (рис. 6.34). По кинетике этот ток напоминал медленный Ca^{2+} -ток, и его можно было выделить, только заблокировав Ca^{2+} -проводимость ионами Co^{2+} или Cd^{2+} .

Потенциал-зависимые катионные каналы могут быть локализованы не только в соме нейронов, но и в их дендритах. Так, в мембранах дендритов клеток Пуркинью были зарегистрированы потенциал-зависимые Ca^{2+} -токи, которые обеспечивали генерацию ПД (рис. 6.35). Эти дендритные ПД достигают сомы нейрона, прерывая тоническую последовательность соматических Na^+/K^+ ПД. Соматические ПД не распространяются по всему дендритному дереву и лишь электротонически проникают на небольшие расстояния от сомы.

В дальнейшем были открыты и исследованы многочисленные потенциал-зависимые каналы для основных ионов, играющих определенную роль в механизмах активации клеточных мембран (рис. 6.36).

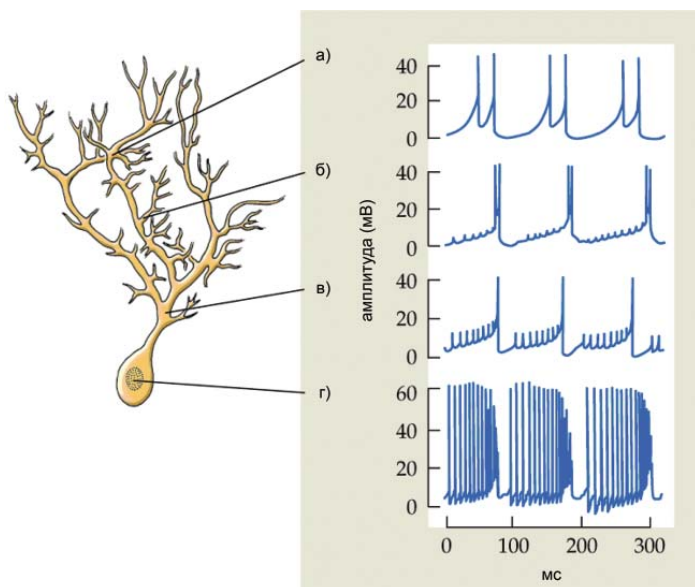


Рис. 6.35. ПД в соме и дендритах клеток Пуркинью. В дендритах зарегистрированы ПД (а-в), обусловленные Ca^{2+} -проводимостью через потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы. Эти дендритные ПД достигают сомы нейрона, прерывая тоническую последовательность соматических Na^+/K^+ ПД (г). Соматические ПД не распространяются по всему дендритному дереву и лишь электротонически проникают на небольшие расстояния от сомы (в).

Потенциал-зависимые каналы (и пропускаемые ими токи) разделяют по различным свойствам. Например, выделяют низкопороговые и высокопороговые токи, которые возникают, соответственно, при небольших и существенных колебаниях мембранного потенциала относительно ПП. Другим критерием является временная динамика тока. В соответствии с этим критерием токи бывают фазические (англ., *transient*), или быстро инактивирующиеся, и длительные — непрерывные (*sustained*), устойчивые, постоянные (*persistent*), продолжительные (*long lasting*).

Na^+ -токи

Два Na^+ -тока широко распространены среди нейронов различных частей нервной системы. Эти токи различаются по порогу активации, степени инактивации и амплитуде.

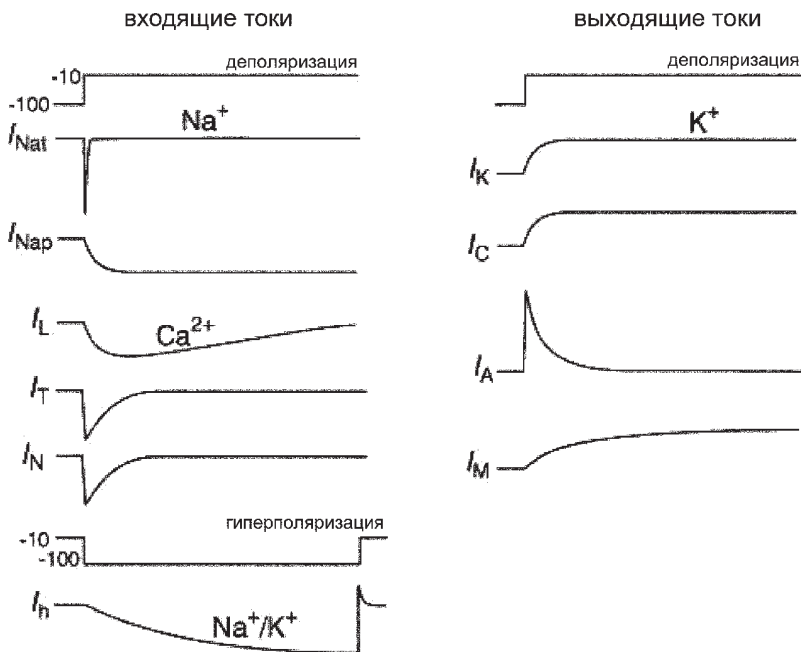


Рис. 6.36. Схематическое отображение потенциал-зависимых катионных токов клеточных мембран мозга млекопитающих. Токи активируются скачком потенциала от -100 до -10 мВ (деполяризация) или от -10 до -100 мВ (гиперполяризация).

$I_{Na,t}$ (*transient*). Активируется и инактивируется в течение нескольких миллисекунд. Все исследованные на сегодня нейроны ЦНС обладают высокоамплитудным $I_{Na,t}$, в то время как $I_{Na,p}$ существенно меньше по амплитуде. Быстрая активация и инактивация делает этот ток идеальным для выполнения роли генерации ПД.

$I_{Na,p}$ (*persistent*, на рис. 6.34 обозначен как $I_{Na+,slow}$). Этот ток быстро активируется при деполяризации, но медленно инактивируется. Подобно синаптическому потенциалу, поддерживает мембранный потенциал около порога генерации ПД. Дополнительная деполяризация усиливает ответ нейрона на приходящее возбуждение.

Ca^{2+} -токи

В настоящее время выделяют несколько Ca^{2+} -токов, различающихся по молекулярной структуре пропускающих их каналов, пороговым

свойствам и кинетике активации (инактивации). Большинство Ca^{2+} -каналов активируется при деполяризации от -20 до -10 мВ. Эти каналы проводят токи I_L , I_N и I_P .

Высокопороговые Ca^{2+} -каналы добавляют порцию деполяризации при генерации ПД, но более важное их значение состоит в том, что Ca^{2+} , попадая в клетку, активирует Ca^{2+} -зависимые K^+ -токи, которые обеспечивают реполяризацию мембраны.

I_L (**Long-lasting**, продолжительный) имеет высокий порог активации (около -10 мВ).

I_N (**Neither**, ни тот, ни другой; имеется в виду ни I_T , ни I_L ; когда был открыт I_N , были известны только I_T и I_L) активируется при -20 мВ, инактивируется при поддерживающейся деполяризации и модулируется разными медиаторами. В некоторых типах клеток I_N вовлекается в процесс высвобождения медиатора из синаптической терминали.

I_P (**Purkinje**) впервые зарегистрирован в клетках Пуркиньи (рис. 6.35), активируется при относительно высоком уровне деполяризации. Этот ток обеспечивает генерацию дендритических Ca^{2+} -спайков, которые модулируют частоту разряда нейрона, прерывая тоническую последовательность соматических Na^+/K^+ ПД.

Единственный **низкопороговый Ca^{2+} -ток I_T (transient**, фазический) обеспечивает ритмический разряд (пачки) ПД. Этот ток активируется при -65 мВ (Na^+/K^+ ПД имеет порог -55 мВ) и инактивируется при устойчивой деполяризации. I_T обеспечивает длительные Ca^{2+} -спайки продолжительностью 50-100 мс. Такая деполяризация снижает порог для Na^+/K^+ ПД, и нейрон генерирует высокочастотные пачки импульсов.

K^+ -токи

Поскольку эти токи выходящие, они обеспечивают не только реполяризацию мембраны, но и влияют на вероятность генерации П. K^+ -токи разделяют по их чувствительности к величине мембранного потенциала, кинетике активации и инактивации, а также блокаде фармакологическими агентами.

I_K (задержанный, выпрямленный K^+ -ток) активируется при -40 мВ, а затем медленно инактивируется. Его активация наступает несколько позже, чем активация фазического $I_{\text{Na,t}}$ -тока, ответственного за генерацию ПД. I_K обеспечивает реполяризацию и следовую гиперполяризацию мембраны после развития ПД.

Ca^{2+} -активируемые K^+ -токи ($I_{\text{K,Ca}}$) активируются при увеличении внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . Выделяют два Ca^{2+} -зависимых тока.

I_C увеличивается с деполяризацией мембраны. Регулирует частоту ПД при продолжительной деполяризации, обеспечивая гиперполяризацию после каждого ПД. Поскольку I_C зависит от потенциала, он инактивируется сразу после реполяризации мембраны. Инактивация ограничивает временной интервал влияния I_C до 10 мс или меньше.

$I_{АНР}$ (*AfterHyperPolarization*, следовая гиперполяризация) в отличие от I_C значительно медленнее и слабо зависит от потенциала. Обеспечивает длительную следовую гиперполяризацию после серии высокочастотных ПД, уменьшая частоту разряда нейрона при устойчивой деполяризации, тем самым обеспечивая частотную адаптацию импульсной активности.

I_A (фазический K^+ -ток) активируется при -60 мВ и быстро инактивируется. Инактивация этого тока устраняется после реполяризации мембраны. I_A задерживает процесс генерации первого ПД, а также снижает частоту разряда нейрона при устойчивой деполяризации.

I_M (мускарин-чувствительный K^+ -ток) активируется при -65 мВ, не инактивируется со временем и блокируется стимуляцией мускариновых холинергических рецепторов. Из-за медленной кинетики активации и умеренной амплитуды не влияет существенно на форму ПД, но вносит вклад в медленную адаптацию частоты спайкового разряда при устойчивой деполяризации. В мембранах нейронов найден аналогичный ток I_S , который блокируется стимуляцией серотониновых метаботропных рецепторов.

I_h , обозначаемый также I_Q или I_f , активируется при гиперполяризации мембраны, возвращая потенциал к более позитивному уровню. I_h относительно медленный и переносится ионами K^+ и Na^+ . Активация I_h приводит к медленной деполяризации, после которой развивается пейсмейкерный разряд (например, в нейронах уздечки), приводящий к активации Na^+/K^+ - и/или Ca^{2+} -спайков.

$I_{K,leak}$ (ток утечки) обеспечивает вклад в ПП мембраны. Блокирование этого тока нейромодуляторами может приводить к длительному изменению мембранного потенциала.

6.8.11. Молекулярная структура потенциал-зависимых каналов

Na^+ - и Ca^{2+} -каналы

Методами биохимии и молекулярной биологии была определена аминокислотная последовательность белка потенциал-зависимого Na^+ -канала электрического органа угря и клонирована ДНК, кодирующая этот белок.

Na⁺-канал представляет собой белковую молекулу, состоящую из 1832 аминокислот, с четырьмя доменами (I-IV), соединенными внутриклеточными петлями (рис. 6.37). Каждый домен, состоящий из 300-400 аминокислотных остатков, имеет шесть трансмембранных участков (S1-S6). Домены Na⁺-канала располагаются кольцом вокруг поры ионного канала. Структура, формирующая ионную пору, располагается между 5-м и 6-м сегментами. Сегмент S4, который имеется во всех четырех доменах, несет положительно заряженный аргининовый или лизиновый остаток в каждой третьей позиции трансмембранного сегмента. Предполагается, что это свойство обеспечивает чувствительность канала к электрическому полю, и оно имеется у всех потенциал-зависимых ионных каналов.

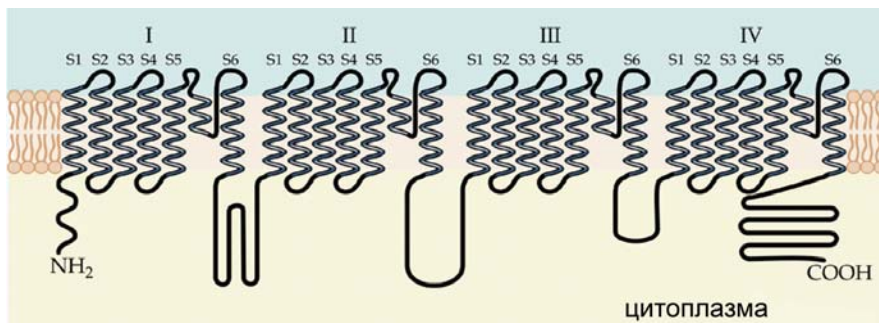


Рис. 6.37. Молекулярная структура Na⁺-канала. Канал представляет собой белковую молекулу с четырьмя доменами (I-IV), соединенными внутриклеточными петлями. Каждый домен имеет шесть трансмембранных участков (S1-S6). Структура, формирующая ионную пору, располагается между 5-м и 6-м сегментами.

Аналогичные белки-каналы были найдены и в других тканях: в мозге млекопитающих, в скелетной и сердечной мышцах. Потенциал-зависимые Ca²⁺-каналы имеют такую же структуру и те же функциональные участки, что и Na⁺-каналы.

K⁺-каналы

Имеется два больших класса K⁺-каналов, определяемых с помощью трансмембранной топологии:

— **K_v**-каналы (voltage-gated, потенциал-зависимые) состоят из одинаковых доменов (тетрамеры), каждый из которых представлен шестью трансмембранными участками белка (S1-S6);

— **K_{ir}**-каналы (inward-rectifier, внутреннего выпрямления) состоят из четырех одинаковых доменов (тетрамеры), каждый из которых пред-

ставлен двумя трансмембранными участками белка M1 и M2, аналогичными трансмембранным петлям S5 и S6 доменов других потенциал-зависимых каналов.

K_v -каналы

K_v -канал является тетрамером и представлен ансамблем из четырех субъединиц (рис. 6.38). Каждая субъединица K^+ -канала похожа на одиночный домен Na^+ -канала. Так же, как и у Na^+ -каналов, структура, формирующая ионную пору, располагается между 5-м и 6-м сегментами, а сегмент S4 обеспечивает чувствительность канала к электрическому полю.

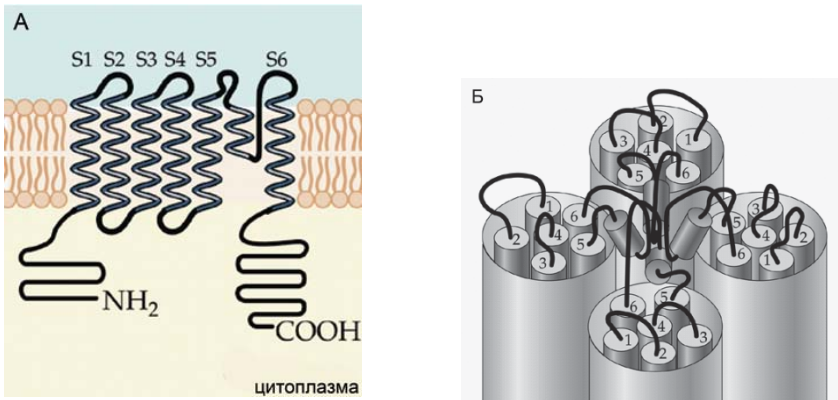


Рис. 6.38. (А) Молекулярная структура субъединицы K_v -канала. Субъединица K_v -канала похожа на одиночный домен Na^+ -канала. (Б) Предполагаемая трехмерная структура канала. Канал представлен ансамблем из четырех субъединиц (тетрамер).

K_{ir} -каналы

Выделено, по крайней мере, пять разновидностей этих каналов. Некоторые из них активируются через метаболитные рецепторы с участием G-белков, цАМФ и Ca^{2+} . Кроме того, фосфорилирование и дефосфорилирование этих каналов влияет на механизм их активации. Каналы из этого класса обеспечивают ток ионов K^+ в клетку, когда мембранный потенциал отрицателен по отношению к равновесному потенциалу K^+ (каналы, пропускающие ток I_h). По структуре эти каналы являются тетрамерами, ионная пора у которых сформирована трансмембранными участками M1 и M2 (рис. 6.39).

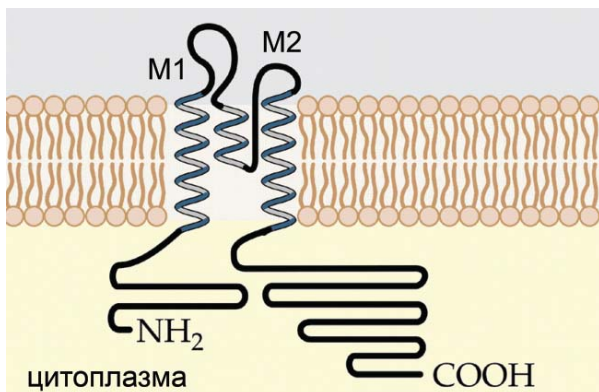


Рис. 6.39. Молекулярная структура субъединицы K_{IR} -канала. Трансмембранные участки M1 и M2 субъединицы K_{IR} -канала гомологичны S5 и S6 петлям субъединиц других каналов. K_{IR} -канал так же, как и K_V -канал, представлен ансамблем из четырех субъединиц (тетрамер).

6.8.12. Транспортные системы в мембране нейронов

Различают два механизма транспорта: системы активного транспорта с использованием энергии гидролиза АТФ и обменники, работающие за счет ионных электрохимических градиентов (главным образом, ионов Na^+).

6.8.12.1. Механизм активного транспорта

Количество ионов, которые входят в клетку и выходят из нее во время генерации ПД, в действительности очень мало по сравнению с числом ионов, имеющихся в клетке. Например, во время генерации одного ПД гипотетическим сферическим нейроном диаметром 25 мкм концентрация внутриклеточного Na^+ изменяется примерно на 6 мкМ (от 15 мМ до 15,006 мМ). Однако даже такие малые изменения концентрации ионов Na^+ , сопровождающиеся также постоянной «утечкой» ионов K^+ в покое, нарушают соотношение концентраций ионов и таким образом приводят нейрон в нефункциональное состояние. Чтобы компенсировать такие нарушения концентраций ионов, нейронные мембраны обладают специализированными белковыми макромолекулами, известными как ионные насосы.

Механизм активного транспорта переносит через мембрану ионы против их пассивного потока по электрохимическому градиенту и обес-

печивает трансмембранную разность потенциалов (ПП). В 1950-х гг. Дж. Скоу показал, что АТФаза в нерве краба выполняет роль Na^+/K^+ -насоса. В этих исследованиях после длительной стимуляции аксона, погруженного в раствор с радиоактивным изотопом $^{24}\text{Na}^+$, через равные интервалы времени измеряли выход этого иона из аксона (рис. 6.40). При действии блокатора реакции окислительного фосфорилирования (с участием фермента АТФазы) динитрофенола выход $^{24}\text{Na}^+$ резко снижался. После того как препарат отмывали от блокатора, выход $^{24}\text{Na}^+$ возобновлялся.

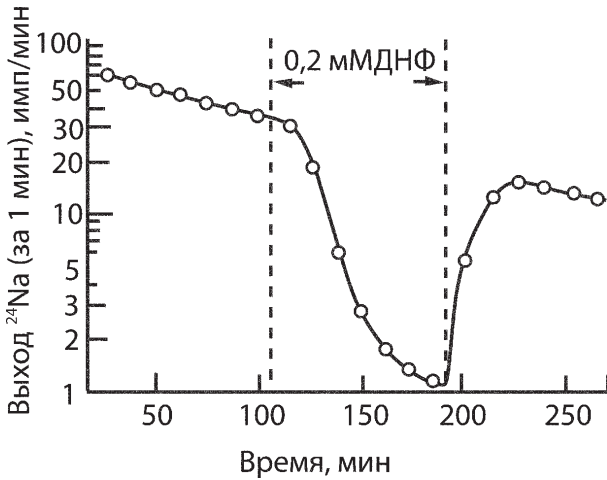


Рис. 6.40. Выход из аксона $^{24}\text{Na}^+$ в присутствии блокатора реакции окислительного фосфорилирования (с участием фермента АТФазы) динитрофенола (ДНФ). При добавлении в среду 0,2 мМ ДНФ выход $^{24}\text{Na}^+$ резко снижался. После того как препарат отмывали от ДНФ, выход $^{24}\text{Na}^+$ возобновлялся.

На основе этих и дальнейших экспериментов была разработана модель работы Na^+/K^+ -АТФазы (рис. 6.41). Переносчик (Na^+/K^+ -насос) выводит из клетки три иона Na^+ и вводит в нее два иона K^+ , то есть удаляет из клетки положительные заряды, внося прямой вклад в поддержание ПП. На внутренней стороне мембраны переносчик расщепляет АТФ, связывается с остатком фосфата и тремя ионами Na^+ и переносит их наружу. На внешней стороне мембраны переносчик теряет остаток фосфата, связывается с двумя ионами K^+ и переносит их внутрь клетки.

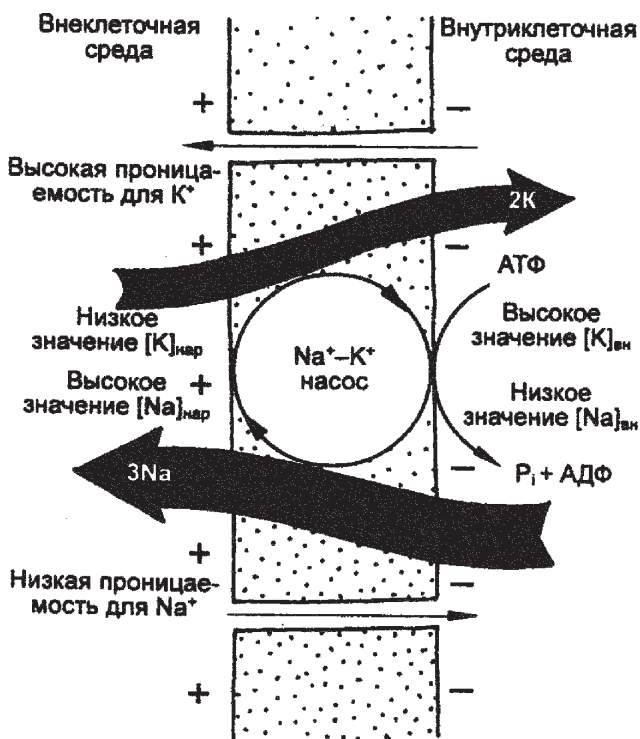


Рис. 6.41. Принцип работы Na⁺/K⁺-насоса. Объяснения в тексте.

Другим примером активного ионного транспорта являются АТФазы, выводящие Ca²⁺ из цитоплазмы. Ca²⁺-АТФазы плазматической мембраны выкачивают Ca²⁺ во внеклеточное пространство. Ca²⁺-АТФазы эндоплазматического (в нейронах) и саркоплазматического (в мышцах) ретикулумов, а также митохондрий закачивают кальций из цитоплазмы во внутриклеточные мембранные структуры. В мембране клеточных органелл Ca²⁺-АТФаза связывается со стороны цитоплазмы с двумя ионами Ca²⁺. При ее фосфорилировании происходит перенос ионов Ca²⁺ внутрь ретикулума, после освобождения переносчик дефосфорилируется и возвращается в исходное положение. В отличие от Ca²⁺-АТФазы мембран клеточных органелл Ca²⁺-АТФаза плазматической мембраны переносит только один Ca²⁺.

В мембране везикул протонный насос с использованием энергии АТФ переносит внутрь везикул H⁺, поддерживая низкий уровень pH.

6.8.12.2. Ионные обменники

Ограничимся лишь перечислением транспортных систем без подробного анализа их работы. Концентрация внутриклеточного Ca^{2+} также регулируется $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменником, то есть Ca^{2+} выводится из клетки за счет градиента ионов Na^+ , направленного внутрь клетки. Причем этот обменник при некоторых физиологических условиях (при значительной деполяризации) может работать в противоположном направлении.

Другой обменник, переносящий Ca^{2+} , найден в мембранах фоторецепторов сетчатки. Этот обменник дополнительно к градиенту Na^+ использует градиент ионов K^+ и при переносе Ca^{2+} наружу вместе с ним переносится и K^+ .

Концентрация Cl^- поддерживается благодаря работе хлорид-бикарбонатного насоса, который обменивает ион Cl^- (наружу) на ион Na^+ (внутри) и ион HCO_3^- (внутри). Еще один механизм транспорта Cl^- — это K^+/Cl^- котранспорт (Cl^- выводится вместе с K^+).

Внутриклеточный уровень pH поддерживается благодаря Na^+/H^+ -наосу, обменивающему один H^+ (наружу) на один Na^+ (внутри).

Транспорт медиаторов из внеклеточного пространства в нейрон также обеспечивается перемещением ионов. Транспорт глутамата сопряжен с входом двух ионов Na^+ и выходом одного иона K^+ , при этом из клетки выводится один ион OH^- (или HCO_3^-). ГАМК, глицин и моноамины (норадреналин, дофамин и серотонин) транспортируются за счет входа в нейрон двух ионов Na^+ и одного иона Cl^- . После гидролиза ацетилхолина в синаптической щели холин закачивается в аксонную терминаль так же, как ГАМК, глицин и моноамины.

Транспорт нейромедиаторов из цитоплазмы внутрь везикул основан на перемещении протонов. Моноамины и ацетилхолин транспортируются в везикулу за счет энергии двух протонов, выходящих из нее. Аминокислоты ГАМК, глицин и глутамат транспортируются в везикулу в обмен на один протон, при этом вместе с глутаматом в везикулу входит один ион Cl^- .

6.9. Проведение потенциала действия по нервному волокну

Клетки сообщаются друг с другом посредством лишь двух типов сигналов — градуальных и импульсных. Градуальные потенциалы возникают в мембранах чувствительных окончаний сенсорных рецепторов и в мембранах нейронов, а ПД — в проводящих

структурах: аксонах и иногда в дендритах. Рецепторные потенциалы пассивно распространяются по окончаниям нервных клеток за счет кабельных свойств мембран и постепенно затухают. Поэтому эти потенциалы не могут распространяться на большие расстояния. Для передачи информации на большие расстояния в ЦНС генерируются ПД.

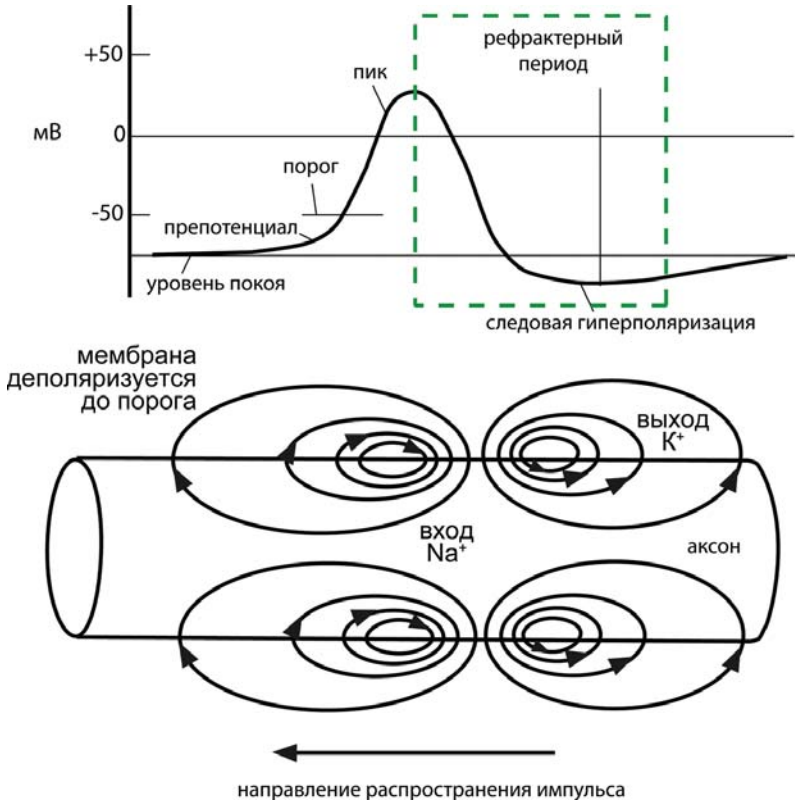


Рис. 6.42. Генерация ПД в локальном участке волокна. Объяснения в тексте.

6.9.1. Проведение ПД в немиелинизированных аксонах

Передача ПД по немиелинизированному нервному волокну зависит от пассивного распространения тока в соседние участки мембраны. Размер участка, который деполяризован пришедшим ПД, зависит от его длительности и скорости проведения возбуждения по мембра-

не. Если в соседнем участке мембраны потенциал на переднем фронте ПД достигает порога, активируются потенциал-зависимые Na^+ -каналы, что приводит к возникновению мощного входящего тока и генерации ПД в данном участке (рис. 6.42). Позади от пика ПД активируется потенциал-зависимая K^+ -проводимость, которая вызывает реполяризацию мембраны до уровня ПП. ПД обычно движется в одну сторону, так как инактивация Na^+ -каналов препятствует повторной деполяризации мембраны.

Скорость распространения ПД в немиелинизированных аксонах определяется величиной тока, генерируемого в активном участке, и кабельными свойствами волокна. Скорость распространения тока прямо зависит от λ и обратно зависит от τ . Как было показано выше (параграф 6.7), λ пропорциональна квадратному корню диаметра волокна, поэтому толстые волокна проводят возбуждение быстрее, чем тонкие. Постоянная времени τ , как произведение удельного сопротивления и удельной емкости мембраны ($R_m C_m$), не зависит от размера волокна.

6.9.2. Миелинизированные аксоны и сальтаторная проводимость

Нервные волокна позвоночных обычно миелинизированы. Миелиновую оболочку вокруг аксонов в ЦНС образуют олигодендроциты, а в периферических нервах — шванновские клетки. Миелинообразующие клетки плотно облегают аксоны нейронов, формируя тесно упакованные ламели (рис. 6.43), число которых достигает нескольких десятков. Миелиновая оболочка создает высокое сопротивление мембраны, при этом существенно снижается и мембранная емкость.

Миелиновая оболочка прерывается участками без миелина (перехватами Ранвье). Расстояние между соседними перехватами до 100 раз превосходит внешний диаметр волокна. Благодаря изолирующей функции миелиновой оболочки, ток при возбуждении миелинизированных аксонов протекает, главным образом, по перехватам, «перескакивая» покрытые миелином участки (рис. 6.44). Такое скачкообразное (сальтаторное от лат. *saltore* — прыгать) возбуждение значительно повышает скорость распространения ПД по аксону. При этом генерация ПД может происходить сразу в нескольких перехватах. Миелинизированные аксоны способны проводить нервные импульсы с более высокой частотой в течение длительного периода. При активации небольшого

межперехватного участка через мембрану проходит меньшее число катионов, и энергозависимая система активного транспорта переносит меньше ионов, успевая полностью восстановить исходные концентрационные градиенты.

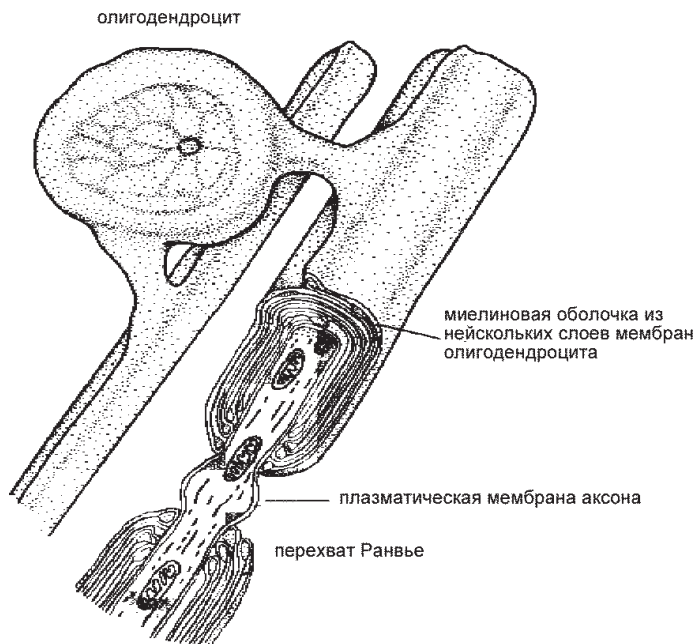


Рис. 6.43. Миелиновая оболочка (в разрезе), образованная олигодендроцитом вокруг аксона нейрона мозга.

6.9.3. Скорость проведения в миелинизированных волокнах

Скорость проведения ПД в миелинизированных аксонах, измеренная у многих объектов, составляет от нескольких до 200 м/с. Скорость проведения любого электрического кабеля зависит от соотношения поперечного и продольного сопротивления. Утолщение миелиновой оболочки приводит к увеличению сопротивления мембраны аксона. В то же время с увеличением толщины миелиновой оболочки уменьшается площадь поперечного сечения аксоплазмы, что приводит к увеличению ее внутреннего продольного сопротивления. Первое влечет за собой ускорение проведения, второе, на-

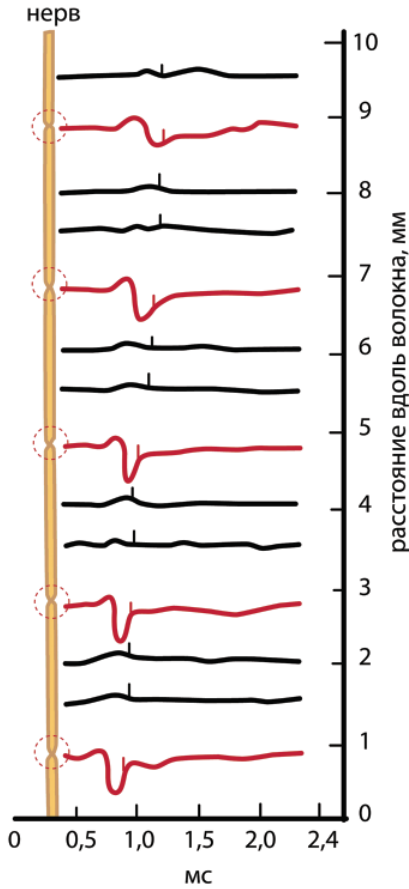


Рис. 6.44. Возбуждение миелинизированного волокна с перехватами Ранвье. При активации аксона регистрирующий электрод перемещали вдоль нервного волокна от участка стимуляции (0 на шкале расстояния). Импульсы регистрировались только от участков (выделены), свободных от миелина. Метод позволяет измерять как входящие токи в перехватах, так и продольные токи в межперехватных участках, предоставляя возможность определить положение перехватов Ранвье и расстояния между ними.

против, — его замедление. Оптимальная толщина миелина достигается, когда диаметр аксона составляет около 0,7 от внешнего диаметра волокна, в периферических нервах млекопитающих это отно-

шение варьирует от 0,6 до 0,8. Оптимальное расстояние между перехватами, обеспечивающее максимальную скорость, превосходит диаметр аксона примерно в 100 раз.

6.9.4. Ионные каналы в миелинизированных волокнах

В миелинизированных волокнах Na^+ -каналы сконцентрированы в перехватах Ранвье, а K^+ -каналы локализованы в приперехватных областях оболочки. Как показали специальные исследования, при возбуждении в перехватах Ранвье возникает лишь потенциал-зависимый входящий Na^+ -ток, а реполяризация обеспечивается не за счет потенциал-зависимой K^+ -проводимости, а в результате быстрой инактивации Na^+ -каналов и тока утечки с высокой проводимостью. После очистки от миелина участка, соседнего с перехватом Ранвье, в нем был зарегистрирован выходящий K^+ -ток, а Na^+ -ток отсутствовал.

6.9.5. Фактор надежности проведения ПД

Фактор надежности проведения — это отношение амплитуды деполяризации, которую создает ток активированного перехвата в следующем перехвате, к пороговому уровню активации потенциал-зависимых Na^+ -каналов. В миелинизированных периферических волокнах позвоночных фактор надежности примерно равен 5. На участках, где исчезает миелиновая оболочка (в непосредственной близости от аксонной терминали аксона мотонейрона), ток из последнего перехвата распределяется на существенно большую площадь немиелинизированной мембраны нервного окончания. Снижение плотности тока на мембране производит меньшую деполяризацию, чем в перехватах Ранвье. По-видимому, по этой причине последние межперехватные участки перед немиелинизированным окончанием обычно укорачиваются. Благодаря этому, большее количество одновременно активированных перехватов создает достаточную плотность токов для деполяризации нервного окончания.

6.9.6. Проведение ПД в дендритах

Дендритные ПД, вызываемые потенциал-зависимыми Na^+ - и Ca^{2+} -токами, обнаружены во многих типах нервных клеток. Как было показано, в удаленных от сомы дендритах клеток Пуркинье мозжечка генерируются Ca^{2+} -спайки. Такие же спайки возникают и в дендритах корковых пирамидных нейронов (рис. 6.45).

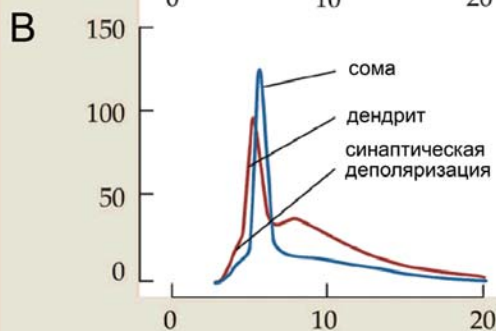
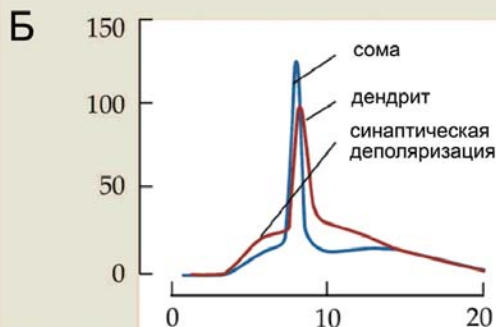
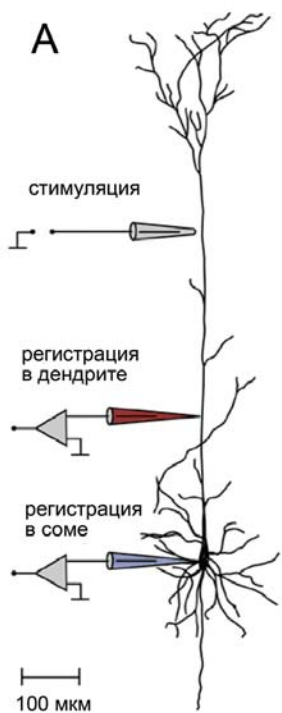


Рис. 6.45. Проведение ПД в пирамидном нейроне коры мозга. (А) Схема расположения электродов для стимуляции и регистрации. (Б) Умеренная деполяризация в результате активации дистального дендрита пассивно распространяется к соме и вызывает соматический ПД. (В) Более высокий уровень деполяризации вызывает Ca^{2+} -ПД в дендрите.

Умеренная синаптическая активация вызывает деполяризацию дендритов, которая пассивно распространяется к соме и вызывает соматический ПД (рис. 6.45, Б). Этот ПД распространяется обратно в дендрит и регистрируется там сразу после соматического. Более сильная синаптическая активация приводит к генерации Ca^{2+} -ПД в дендрите, который регистрируется раньше соматического (рис. 6.45, В).

Следует отметить, что распространение ПД в дендрите представляет собой гораздо более сложный процесс, чем в аксоне. Во-первых, в мембране аксона подпороговые изменения потенциала не влияют на

пассивные свойства мембраны. В мембранах дендритов, кроме обычных Na^+/K^+ - и Ca^{2+} -механизмов генерации ПД, обнаружен целый ряд потенциал-зависимых проводимостей. Кроме того, на мембранах дендритов оканчиваются многочисленные синапсы, при активации которых генерируются ПСП. Поэтому функциональное значение и механизмы генерации ПД в дендритах требуют дальнейшего исследования.

Выводы

- Потенциал покоя определяется, главным образом, разностью концентраций K^+ по обе стороны мембраны, поскольку в покое мембрана проницаема главным образом для ионов K^+ . При уравнивании сил диффузии (K^+ выходит наружу по концентрационному градиенту) и электрического поля (K^+ движется в цитоплазму под действием притяжения органическими ионами) на мембране устанавливается равновесный потенциал для иона K^+ .

- В потенциал покоя вносят вклад концентрационные градиенты других ионов (Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- и H^+), а также транспортные системы, которые переносят ионы против их концентрационных градиентов с использованием энергии АТФ или энергии концентрационных градиентов некоторых ионов.

- Под действием некоторых медиаторов ионотропные рецепторы открывают ионные каналы (прямая синаптическая передача), через которые течет смешанный катионный ток (Na^+/K^+ -ток и иногда Ca^{2+} -ток), который называют возбуждающим постсинаптическим током (ВПСТ). В результате в нейронах и мышечных волокнах генерируются возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП), которые деполяризуют мембрану.

- ВПСТ деполяризует мембрану до уровня потенциала реверсии, который в случае одного иона равен его равновесному потенциалу, а в случае нескольких ионов складывается из суммы равновесных потенциалов для каждого иона.

- Некоторые ионотропные рецепторы при взаимодействии с медиатором открывают каналы, через который течет Cl^- -ток, который гиперполяризует мембраны нейронов. Этот ток называют тормозным постсинаптическим током (ТПСТ), а потенциалы, которые генерируются при его действии, — тормозными постсинаптическими потенциалами (ТПСП).

- Тормозные синапсы могут присутствовать на пресинаптических мембранах. Их тормозное действие проявляется в ослаблении или ус-

транении деполяризации аксонной терминали, что приводит к ослаблению Ca^{2+} -токов и уменьшению выделения медиатора.

- При активации метаботропных рецепторов (непрямая синаптическая передача) в мембранах нейронов и различных эффекторов возникают постсинаптические потенциалы, обусловленные, главным образом, выходящими K^+ -токами. Эти токи производят тормозный эффект, препятствуя деполяризации мембраны.

- Иногда активация метаботропных рецепторов приводит, напротив, к закрытию K^+ -каналов, что является возбуждающим эффектом, устраняющим торможение. Возбуждающим эффектом метаботропных рецепторов является также устранение инактивации потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов (глава 5).

- Пассивные электрические свойства мембран нейронов и их отростков (сопротивление и емкость мембраны, а также сопротивление цитоплазмы) способствуют распространению электрических потенциалов.

- Кабельные свойства мембран влияют на возбудимость нейронов, а также на проведение потенциалов по их отросткам. Кроме того, на проведение потенциалов оказывает влияние пространственная конфигурация нейронных отростков.

- Потенциалы, возникающие в сенсорных рецепторах, и постсинаптические потенциалы распространяются по мембранам на небольшие расстояния, постепенно уменьшаясь по амплитуде.

- Потенциал действия генерируется при деполяризации мембраны аксона до порогового уровня активации потенциал-зависимых Na^+ -каналов.

- Потенциал-зависимый процесс инактивации Na^+ -каналов, а также открытие потенциал-зависимых K^+ -каналов приводят к реполяризации мембраны.

- Процесс инактивации Na^+ -каналов определяет свойство рефрактерности возбудимых мембран.

- В мембранах нейронов обнаружены многочисленные потенциал-зависимые каналы, проводящие катионные токи. Эти токи оказывают влияние на процесс генерации потенциалов действия и на рефрактерность мембран.

- В дендритах некоторых нейронов потенциал действия генерируется и распространяется при активации потенциал-зависимых Ca^{2+} -каналов.

- Потенциал-зависимые Na^+ - и Ca^{2+} -каналы состоят из четырех белковых субъединиц, каждая из которых представлена шестью трансмембранными участками. Потенциал-зависимые K^+ -каналы состоят также

из четырех белковых субъединиц, но для разных видов каналов субъединица представлена двумя или шестью трансмембранными участками.

- Ионные градиенты между цитоплазмой нейрона и внеклеточной средой (или средой внутриклеточных органелл) поддерживаются транспортными системами. Механизм активного транспорта обеспечивается АТФазами — ионными насосами, использующими энергию АТФ. Эти насосы перекачивают ионы Na^+ , K^+ , Ca^{2+} и H^+ (внутри везикул) против их концентрационных градиентов.

- Ионные обменники переносят через мембраны ионы, медиаторы и другие вещества с использованием ионных градиентов Na^+ и H^+ .

- Потенциал действия распространяется по волокнам без миелина с большой скоростью на большие расстояния. Скорость распространения зависит от кабельных свойств аксона и увеличивается с диаметром волокна.

- В миелинизированных волокнах скорость проведения потенциала действия существенно увеличивается в результате «перескакивания» ионных токов через изолированные миелином участки.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Ашмарин И. П. Биохимия мозга. СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 1999.
2. Николс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. М.: Едиториал УРСС, 2003.
3. Смит К. Биология сенсорных систем. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2005
4. Шульговский В. В. Физиология центральной нервной системы. М.: МГУ, 1997.
5. Эккерт Р., Рэнделл Д., Огастин Дж. Физиология животных. Механизмы и адаптация. М.: Мир, 1991.

Дополнительная

1. Гранит Г. Основы регуляции движений. М.: Мир, 1973.
2. Катц Б. Нерв, мышца, синапс. М.: Мир, 1968.
3. Костюк П. Г., Крышталь О. А. Механизмы электрической возбудимости нервной клетки. М.: Наука, 1981.
4. Руководство по физиологии. Общая физиология возбудимых мембран. Л.: Наука, 1973.
5. Ходжкин А. Нервный импульс. М.: ИЛ, 1965.
6. Хухо Ф. Нейрохимия. Основы и принципы. М.: Мир, 1990.

Глава 7. СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЕРЕДАЧА СИГНАЛОВ

В главе рассматриваются механизмы передачи сигналов между нервными клетками и их мишенями, основные принципы строения и функционирования синаптических связей. Включено краткое описание истории формирования клеточной теории строения мозга, нейронной доктрины и теории химической синаптической передачи.

Особый акцент в тексте главы делается на многообразии типов синапсов. Общие принципы строения и функционирования химических синапсов дополняются данными, полученными на идентифицируемых нейронах и синапсах. Подчеркивается сходство общих принципов синаптической передачи у беспозвоночных и высших позвоночных животных, проявляющееся и на нейронном, и на молекулярном уровнях.

7.1. История теории химической передачи нервного импульса

В XIX веке морфологи и гистологи добились больших успехов в изучении тонкого строения нервных тканей. Ян Пуркинье в 1836 году впервые описал в мозжечке клетки, которые сегодня известны как «клетки Пуркинье». Дейтерс (1865) дал название «протоплазматическим отросткам», «осевому цилиндру» и «аксонному холмику». Гис (1886) описал эмбриогенез клеток мозга, а Форель (1887) показал, что клетки мозга могут повреждаться индивидуально. Эти достижения были в большой степени связаны с использованием новых методов окраски нервных тканей, наиболее известным из которых является окраска (импрегнация) солями серебра. Именно этим методом получены данные, подтвердившие правильность клеточной теории и в отношении нервных тканей, хотя создатель метода был с этим не согласен.

Импрегнацию серебром придумал и впервые применил для окрашивания тканей нервной системы (НС) известный итальянский нейрогистолог Камилло Гольджи (1973). Он опробовал этот метод на обонятельной луковице (1875), а в 1885 году вышла монография по тонкой анатомии структур центральной нервной системы (ЦНС), иллюстрации для которой были подготовлены по результатам использования метода окраски солями серебра (рис. 7.1). Сегодня метод импрегнации серебром так и называется «импрегнация по Гольджи», или «окраши-

вание по Гольджи» (Golgi impregnation, Golgi staining). Многие современные знания о нервной системе получены с использованием этого метода и его модификаций.

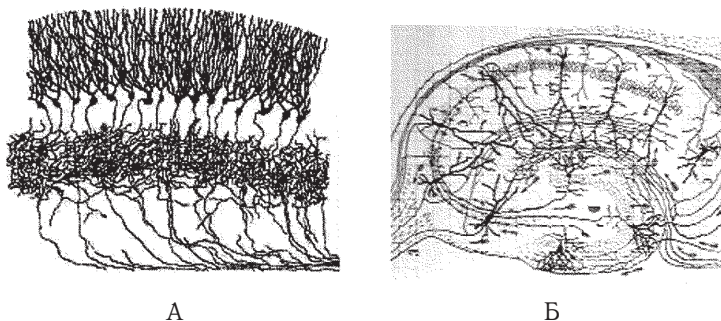


Рис. 7.1. Окрашенные по Гольджи ткани мозжечка (А) и гиппокампа (В) (Golgi С., 1885. A monograph on the fine anatomy of the central nervous organs).

Важное преимущество импрегнации, по Гольджи, заключается в возможности индивидуального окрашивания клеток нервной ткани. Достижения Гольджи не ограничились изобретением метода. Камилло Гольджи описал морфологию глиальных клеток и связь между отростками глии и сосудами. Термин «нейрон» (от греч. *neurōn* — нерв) стал использоваться после описания Гольджи двух типов нервных клеток, известных сегодня как нейроны Гольджи типа I и типа II. По современной номенклатуре эти клетки чаще называют «проекционными нейронами» и «нейронами локальных цепей», или «интернейронами» (рис. 7.2).

Таким образом, в конце XIX века все предвещало торжество клеточной теории над ретикулярной и в отношении нервной системы. Но даже Камилло Гольджи не признавал правильность клеточного подхода для нервных тканей, что и было им продемонстрировано во время чтения Нобелевской лекции в 1906 году в Страсбурге. Вторым лауреатом Нобелевской премии 1906 года в области физиологии и медицины стал испанский нейрогистолог Сантьяго Рамон-и-Кахаль. В отличие от Гольджи, Кахаль был сторонником клеточной теории и считается создателем «нейронной доктрины». Метод Гольджи был по достоинству оценен и взят на вооружение Рамон-и-Кахалем, и им были получены неоспоримые, как он считал, экспериментальные данные (1988), подтверждающие клеточную теорию строения мозга (рис. 7.3).

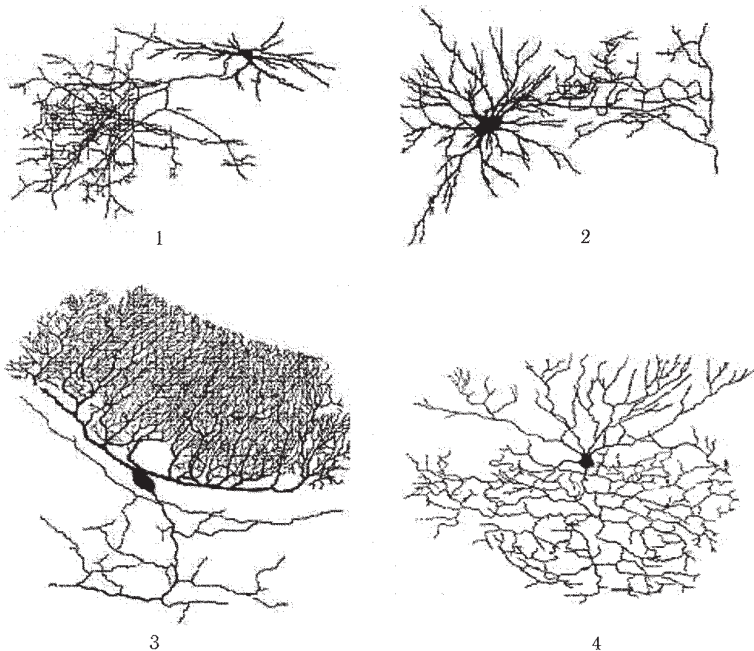


Рис. 7.2. Камилло Гольджи (1885. A monograph on the fine anatomy of the central nervous organs). Два основных типа нервных клеток: нейроны Гольджи типа I (1, 2) и типа II (3, 4). По современной номенклатуре эти нейроны известны как проекционные нейроны и нейроны локальных сетей, или интернейроны.

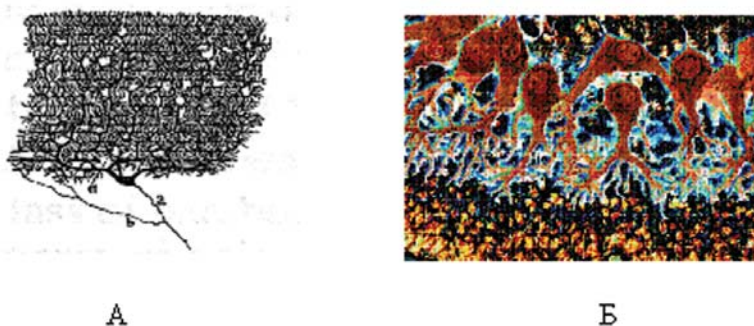


Рис. 7.3. (А) Изображенная Кахалем окрашенная методом Гольджи клетка Пуркинье (Кахаль, 1985) и (Б) фотография клеток Пуркинье мозжечка мыши, окрашенных иммуно-гистохимическими методами (2003).

Но даже огромный объем экспериментальных данных, полученных исследователями мозга к началу прошлого века, не позволял просто остановиться на решении об универсальности клеточного подхода для всех тканей организма, включая нервную. Критике клеточной теории была посвящена Нобелевская лекция К. Гольджи «Нейронная доктрина: теория и факты». Признание нейронов как изолированных структурных элементов мозга сразу же ставило вопрос о механизме связи между ними (а также между органами чувств, клетками мозга, нервными волокнами и иннервируемыми ими мышцами и висцеральными органами).

Несмотря на теоретические разногласия Кахаля и Гольджи, Нобелевская премия была присуждена им обоим за «работы по структуре нервной системы».

Гипотетически вопрос был решен физиологами. Английский физиолог Чарльз Скотт Шеррингтон сформулировал представление об области контакта между нейронами и предложил термин — «синапс»: «Такое особое соединение одной нервной клетки с другой можно назвать синапсом» (*из главы о спинном мозге Ч. Шеррингтона в учебнике Фостера по физиологии 1887 г.*). В монографии 1906 года «Интегративная деятельность нервной системы» Шеррингтон предложил формальное определение: «Синапс — участок с наличием поверхностей раздела». Он исследовал функции синапса. В 1932 году Шеррингтон (совместно с Эдрианом) за исследование функций нейронов был удостоен Нобелевской премии.

Но механизм функционирования синаптических контактов оставался открытым. Вариантов было два: электрический и химический. В настоящее время доказано, что в нервной системе работают оба механизма. Основной способ передачи сигналов между клетками в НС — химический. Вещества, передающие сигналы с нейрона на нейрон, называют, согласно их функции «посредника», медиаторами, или нейротрансмиттерами.

Сигналы между нервными клетками передаются главным образом химически, путем секреции (экзоцитоза) медиатора (нейромедиатора, нейротрансмиттера) из пресинаптического окончания в синаптическую щель и взаимодействия молекул медиатора с рецепторами постсинаптической мембраны.

В XIX веке физиологические исследования мозга развивались параллельно с анатомическими и гистологическими исследованиями и практически не пересекались. С появлением гальванометров (в сере-

дине века) возникла электрофизиология. Токи и потенциалы были зарегистрированы у живых организмов, в том числе у человека.

В начале XX века исследования перешли на клеточный уровень. В России ученики и последователи Ивана Михайловича Сеченова добились больших успехов в изучении механизмов передачи сигналов в нервной системе. В доказательстве химического способа взаимодействия между нейронами и мышцами и между нейронами симпатического ганглия А. Ф. Самойлов и А. В. Кибяков не отставали от своих западных коллег (см. Сахаров Д. А., 1974, 1990). Отто Леви и Генри Дейл были удостоены в 1936 году Нобелевской премии «за их открытия, связанные с химической передачей нервных импульсов».

Разногласий между «ретикулярщиками» и «клеточниками» не осталось только с появлением в середине XX века нового метода — электронной микроскопии. Основные этапы в формировании теории химической передачи нервного импульса представлены в таблице 7.1.

Таблица 7.1

Химическая передача нервного импульса: история теории

- | | |
|------|--|
| 1843 | Эмиль Дю Буа-Реймон высказывает предположение о химической передаче сигнала между нервными клетками. |
| 1850 | Клод Бернар описывает действие кураре на нервные клетки. |
| 1904 | Т. Р. Эллиотт высказывает гипотезу о роли адреналина в передаче сигналов. |
| 1906 | Джон Н. Ленгли высказывает гипотезу о рецепторной субстанции в клетке. |
| 1914 | Генри Дейл описывает действие эфиров холина и ацетилхолина. |
| 1921 | Отто Лёви приводит экспериментальное доказательство химической гипотезы передачи сигналов в блуждающем нерве. |
| 1924 | А. Ф. Самойлов доказывает химическую природу нервно-мышечной передачи. |
| 1926 | О. Лёви доказывает, что нейротрансмиттером в парасимпатической нервной системе является ацетилхолин. |
| 1933 | А. В. Кибяков доказывает химическую природу синаптической передачи между нейронами в симпатическом ганглии. |
| 1934 | Фельдберг и Геддум определяют ацетилхолин как химический передатчик в ганглии. |
| 1935 | А. Г. Гинецинский описывает потенциал концевой пластинки (ПКП) и формулирует квантовую (порционную) теорию синаптической передачи. |

- 1936 Генри Дейл описывает роль ацетилхолина как передатчика возбуждения на скелетную мышцу.
- 1936 Г. Дейл и О. Лёви получают Нобелевскую премию за исследования химической трансмиссии нервных импульсов.
- 1959 Поттер открывает электрические синапсы у рака.
- 1963 Джон Эклс получает Нобелевскую премию за открытия химического механизма, с помощью которого импульсы запускаются или подавляются другими клетками (совместно с Аланом Ходжкиным и Эндрю Хаксли).
- 1970 Кац получает Нобелевскую премию за открытия в области изучения медиаторов нервных волокон и механизмов их сохранения, выделения и инактивации.

Концепция синапса — «сердце нейронной доктрины» (*S. Palay*). Пластичность синапсов является основой пластичности мозга. Современные методы позволяют исследовать механизмы синаптической передачи и ее пластичности не только на клеточном, но и на молекулярном уровне. Тенденция к объединению наук, направленных на решение общих проблем, приносит плоды. Достижения нейронауки последних десятилетий — яркий тому пример. Другой пример предложенная Е. Н. Соколовым, повсеместно принятая стратегия психологии: «Человек — Нейрон — Модель».

7.2. Виды межнейронных синаптических соединений

7.2.1. Классификация синапсов

В нервной системе (НС) идентифицировано большое число типов нервных клеток. Типов синапсов, межнейронных соединений в НС не меньше, чем типов самих нейронов. Для определения функциональных и морфологических характеристик синапса требуется его «идентификация». Несколько десятилетий назад идентификация нейронов и синапсов была возможна только на «простых нервных системах» беспозвоночных животных. Сегодня говорят об идентифицируемых синапсах высших позвоночных животных на нескольких модельных объектах у млекопитающих.

Теоретический вопрос о разнообразии синаптических контактов требует специального, эволюционного рассмотрения (Сахаров, 1974, 1990). Без детального рассмотрения морфологических и функциональных характеристик синаптических контактов не может быть решен вопрос

о пластичности синапсов и, соответственно, о характере и механизмах модулирующих влияний.

Итак, многообразие типов синаптических контактов предполагает их классификацию. Существует несколько оснований для классификации синапсов:

- 1) по носителю сигнала: электрические, химические;
- 2) по скорости передачи (по типу рецептора: ионо- и метаболитные);
- 3) по результату действия (возбуждающие, тормозные);
- 4) по эргичности (типу медиатора);
- 5) по мишени, по локализации на мишени, по сложности;
- 6) идентифицируемые синапсы моллюсков и млекопитающих.

Химическая передача, передача сигналов с помощью химических веществ, медиаторов, является основным способом передачи сигналов между нейронами в мозге и между клетками НС и их мишенями на периферии (рецепторами и эффекторами). Химическим синапсам уделено основное наше внимание. Но без описания электрической синаптической связи обойтись нельзя. С электрического синапса начинается описание синаптической связи вообще. Это традиция.

7.2.2. Электрические синапсы

Передача возбуждения от клетки к соседней клетке электрическим способом возможна благодаря тесному соприкосновению клеточных мембран. Прохождение через них электрического тока возможно благодаря очень узкой синаптической щели (2-5 нм) и низкому удельному сопротивлению, обусловленному наличием поперечных каналов, пересекающих обе мембраны, — *нексусов*, иначе называемых щелевыми контактами (*gap junctions*). Диаметр каналов составляет около 1 нм. Каналы образуются белковыми молекулами (полуканалами) каждой из контактирующих мембран, которые соединяются комплементарно. Эти каналы получили наименование «*коннексоны*» (от англ. «*connection*» — связь). Каждый коннексон складывается из шести субъединиц белков-коннексонов, которые пронизывают мембрану и выступают наружу в межклеточную щель. В центральной части коннексонов образуется узкий проход, через который клетки могут обмениваться ионами, а также мелкими молекулами с массой до 1 кД.

В связи с этим физиологические процессы в нексусах условно разделяются на электрические и метаболические. В зависимости от характеристик взаимодействующих клеток результаты электрической передачи могут быть различными, хотя их можно свести к нескольким общим

вариантам: 1) синапс с равным успехом проводит электрические импульсы в обе стороны; 2) предпочтительна передача сигналов в одном направлении, в обратном направлении потенциалы действия не распространяются, а проходят лишь медленные деполяризационные волны; 3) некоторые нексусы обладают способностью проводить де- или гиперполяризационные потенциалы либо в одном, либо в обоих направлениях.

Помимо нервных клеток прямая электрическая передача сигналов не редкость и для клеток других тканей. Такая связь типична для гладкомышечных волокон и сердечных *миоцитов*. Мышечная ткань предсердий и желудочков рассматривается как единая трехмерная разветвленная структура, образованная тесно связанными *кардиомиоцитами*. Благодаря обилию нексусных связей, гладкомышечная и сердечная ткань может рассматриваться как функциональный *синцитий*. Нексусы проводят как медленные электрические волны, генерируемые водителями ритма, так и потенциалы действия, передающиеся через химические синапсы.

Электрические синапсы обнаружены и в электрически пассивных тканях, в частности, между клетками печени, почек и эпителия. По всей видимости, в невозбудимых тканях функциональная роль нексусов сводится не к передаче электрических сигналов, а к метаболическим способам межклеточного взаимодействия, происходящего с участием коннексонов.

Процесс передачи возбуждения в электрических синапсах, благодаря наличию прямых связей, отличается высокой скоростью. Это преимущество используется в нейронных системах, ответственных за быстрые рефлекторные реакции защитного типа, например, рефлекторное подгибание брюшка у ракообразных или быстрое укорочение тела пиявки. Эти синапсы отличаются малой чувствительностью к действию токсических веществ и высокой работоспособностью, поэтому такие связи находятся в нервных центрах, ответственных за реализацию постоянно повторяющихся стереотипных движений. Электрическая передача возбуждения через щелевые контакты высоко эффективна при координации работы нервных клеток, управляющих сокращениями симметричных мышц, а также при синхронизации электрической активности нейронов, объединяющихся в функциональные сети. Нексусы могут закрываться при повреждении или нарушении метаболизма одной из клеток, это предохраняет соседнюю клетку. Конкретными факторами, через которые реализуется такая защитная реакция, является повышенная концентрация ионов Ca^{2+} или H^+ (снижение рН). (Ноздрачев А. Д., 2000).

7.2.3. Химические синапсы

Химический синапс включает пресинапс, синаптическую щель и постсинапс.

Появление в середине XX века электронной микроскопии и микроэлектродной техники регистрации электрической активности синаптически связанных нейронов потребовало уточнения термина «синапс». Чарльз Шеррингтон в начале 20 века определил «синапс» как область контакта одной нервной клетки с другой. А если таких областей много и они пространственно разделены и даже находятся на разных участках контактирующих нейронов? Тогда нужно говорить, что пресинаптический нейрон образует с постсинаптическим несколько синапсов? Но электрофизиологически активность такого «множественного» синапса регистрируется как единое целое — унитарный (единичный, элементарный) постсинаптический потенциал. Множественные синапсы сегодня называют «синаптическим входом», а собственно синапсом только область контакта пре- и постсинаптической клетки, разделенную синаптической щелью. Выделение медиатора происходит не по всей площади синаптической мембраны, а только в локальных участках, в так называемых «активных зонах». Число активных зон в разных синапсах разное. Синапсы могут значительно, в сотни раз, различаться по размеру.

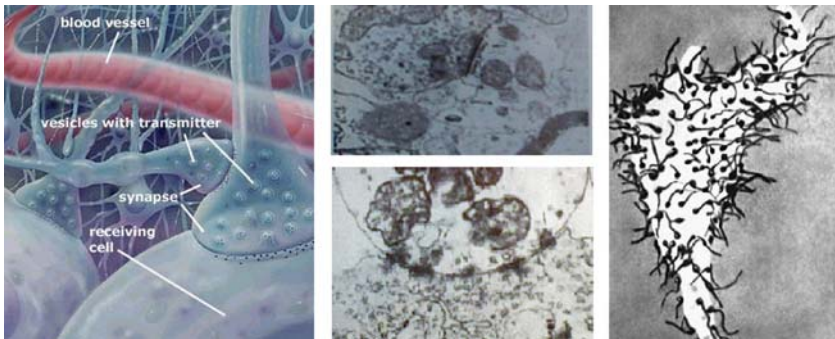


Рис. 7.4. Химический синапс состоит из пре- и постсинаптических областей: пресинапса и постсинапса, разделенных синаптической щелью. Ширина синаптической щели составляет примерно 0,2—0,6 мкм. На электронно-микроскопических снимках видны везикулы с медиатором, митохондрии и уплотнения мембраны (по: Анохин П. К., 1974). Пресинаптические терминали образуют синапсы на разных участках постсинаптической клетки, например, на соме (справа) и на пресинаптических терминалях других нейронов.

В отличие от других участков мембраны нейрона, область синаптического контакта имеет хорошо различимые синаптические уплотнения (рис. 7.4). Сначала говорили только о постсинаптических уплотнениях, о рецепторных областях постсинаптической мембраны (postsynaptic density, PST). В последнее время, в связи с повышенным вниманием к активным зонам пресинапса, все чаще говорят о пресинаптических уплотнениях.

7.2.3.1. Пресинапс

Пресинаптические уплотнения являются видимым (с помощью электронного микроскопа) цитоплазматическим матриксом (the citomatrix at the active zone, CAZ), который ранее называли пресинаптической решеткой. Именно в этих участках, в так называемых «активных зонах», происходит выброс медиатора в синаптическую щель. Активная зона морфологически определяется как область, в которой синаптические везикулы собираются в пулы, прикрепляются к пресинаптической мембране и выбрасывают медиатор. Физиологически активные зоны — это область выделения (экспрессии) медиатора (экзоцитоза).

Пресинаптическая решетка, цитоматрикс активной зоны, является белковой сетью, состоящей по крайней мере из 5 семейств протеинов, участвующих в процессе прикрепления везикул к пресинаптической мембране, их созревания (перехода в состояние готовности), выделения медиатора в синаптическую щель (экзоцитоза), отсоединения везикул без медиатора от мембраны и их транспортировки в цитоплазму терминали (рис. 7.5).

Величина (площадь) активных зон удивительно постоянна, примерно $0,04—0,08 \text{ мкм}^2$, и не зависит от размеров самого синапса. Например, в самом большом из известных синапсов млекопитающих, в аксо-соматическом синапсе Хелда, площадь контакта составляет 2500 мкм^2 , среднее число активных зон превышает 500 (554 по данным обзора Rollenhagen and Lebke, 2006), а площадь активных зон — $0,1 \text{ мкм}^2$ с разбросом $0,08 \text{ мкм}^2$. В наименьших из изученных синапсов, в корковых синапсах между входящими волокнами и пирамидными нейронами пятого слоя, площадь синапсов составляет $7—17 \text{ мкм}^2$, а число активных зон $1—5$. В относительно «маленьком» (около 67 активных зон) синапсе между лазающими волокнами и клетками Пуркинье в мозжечке грызуна средняя площадь активных зон $0,14 \text{ мкм}^2$, что даже больше, чем в гигантском синапсе Хелда.

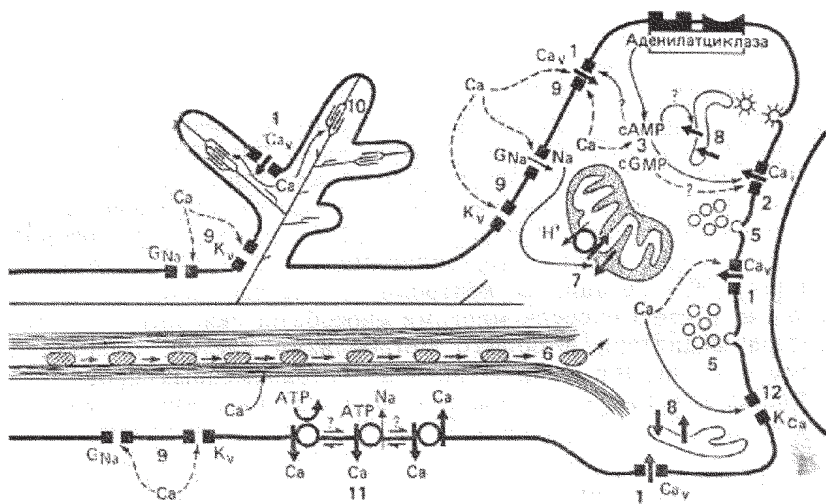


Рис. 7.5. Пресинапс (по Шеперд, 1987).

Как соотносятся понятия «синаптический вход», синапс, активная зона (контакт) с электрофизиологически измеряемыми параметрами, синаптическими потенциалами и токами? Ответы на эти вопросы будут рассмотрены с помощью конкретных примеров идентифицируемых синапсов. К общим механизмам синаптической передачи относится ее квантовый (порционный) характер.

7.2.3.2. Постсинапс

Пресинаптические терминалы оканчиваются на различных частях постсинаптических нейронов — дендритах, соме и аксонах (рис. 7.6). На дендритах синаптические контакты часто располагаются на специальных образованиях — шипиках, являющихся отростками дендрита. Такие синапсы называют шипиковыми. По морфологическим особенностям шипики подразделяют на несколько типов, и все они имеют шейку и головку. На головке шипика расположена активная зона (место контакта с пресинаптической терминалью), которая отличается высокой плотностью мембранных рецепторов. Синапсы, оканчивающиеся не на дендритных шипиках, называют сидячими.

По данным электронно-микроскопических методов, в некоторых синапсах часть постсинаптической мембраны, непосредственно прилегающая к пресинаптической терминали, может иметь постсинаптичес-

кие уплотнения. В зависимости от наличия или отсутствия постсинаптического уплотнения синапсы подразделяют, соответственно, на асимметричные и симметричные. Например, глутаматергические синапсы, как правило, асимметричные и могут быть «шипиковыми» и «сидячими». Синапсы ГАМК-эргической передачи являются симметричными и всегда являются «сидячими». Постсинаптические уплотнения объясняют наличием разнообразных белков, связанных с постсинаптическими рецепторами.

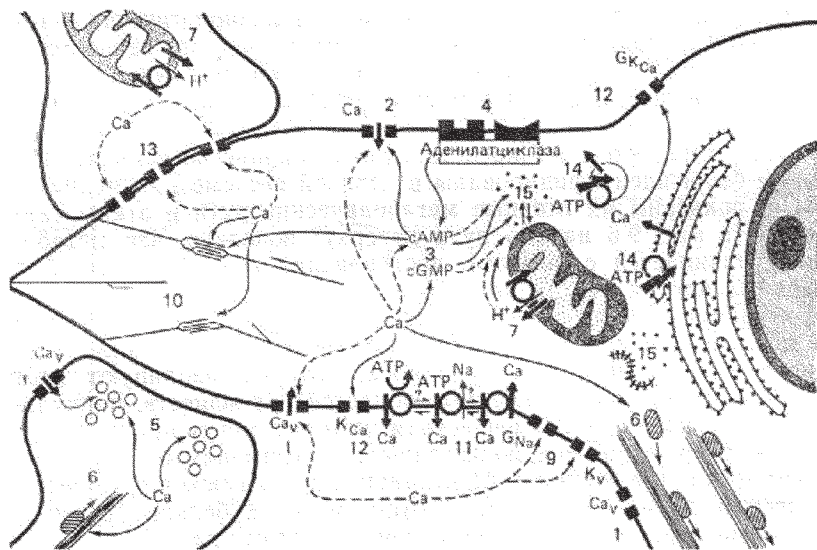


Рис. 7.6. Постсинапс (по Шеперд, 1987).

Постсинаптические части синапса между нейронами и другими клетками (например, мышечными волокнами и железами) отличаются морфологической сложностью. В нервно-мышечном синапсе часть постсинаптической мембраны, которая контактирует с аксонными терминалями мотонейронов, называют субсинаптической мембраной. Субсинаптическая мембрана мышечной клетки образует многочисленные складки, на внешней поверхности которых сконцентрированы ацетилхолиновые рецепторы (рис. 7.7). Такие складки располагаются напротив активных зон пресинаптических терминалей мотонейронов. С использованием флуоресцентных меток на молекулах α -бунгаротоксина, селективно связывающегося с никотиновыми ацетилхолиновыми рецепторами, исследовано распределение ацетилхолиновых рецепторов

на постсинаптической мембране мышечных волокон. Результаты таких исследований подтверждают, что рецепторы сконцентрированы непосредственно в месте контакта аксона с мышечным волокном. Более точное распределение рецепторов стало возможным при использовании радиоактивного α -бунгаротоксина и метода автордиографии. Плотность рецепторов оказалась наибольшей (до $10^4/\text{мкм}^2$) на перегибах и на верхней трети поверхности постсинаптических складок. За пределами области синаптического контакта плотность рецепторов в мембранах составляла около $5/\text{мкм}^2$. Аналогичное распределение плотности мембранных рецепторов характерно и для синапсов центральной и вегетативной нервной системы.

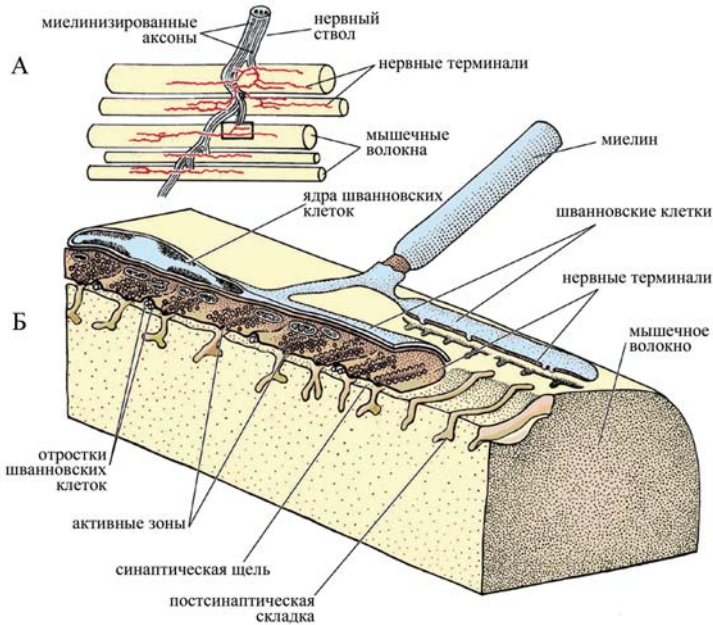


Рис. 7.7. Нервно-мышечный синапс. (А) Аксоны мотонейронов в составе двигательного нерва подходят к мышечным волокнам и теряют миелиновую оболочку. (Б) Каждый аксон разделяется на несколько ветвей, погруженных в желобки мышечной мембраны, и иннервирует одно мышечное волокно, образуя на нем множество касательных синапсов, называемых синаптическими пуговками. Синаптические пузырьки в нервной терминали собираются в виде скоплений в специальных областях (активных зонах) напротив постсинаптических складок. Отростки шванновских клеток проникают между аксонной терминалью и постсинаптической мембраной, разделяя активные зоны.

При активации медиаторами соответствующих им рецепторов постсинапс обеспечивает многообразные физиологические эффекты, определяемые особенностями функционирования рецепторов.

7.3. Диффузная передача сигнала

Медиаторы активируют соответствующие им рецепторы через синапсы или внесинаптическим способом. В отличие от синаптической, внесинаптическая передача в большей степени зависит от скорости диффузии медиатора в межклеточном пространстве. Внесинаптическая диффузная передача может изменять состояние большой группы нейронов, обладающих внесинаптическими рецепторами, чувствительными к диффундирующему медиатору. Внесинаптические рецепторы для некоторых медиаторов обнаружены на мембранах различных частей нейрона. Диффузное распространение медиатора из синаптической щели на некоторое расстояние называют спиловером (англ., spillover, spill — разливаться, over — перелив) (рис. 7.8).

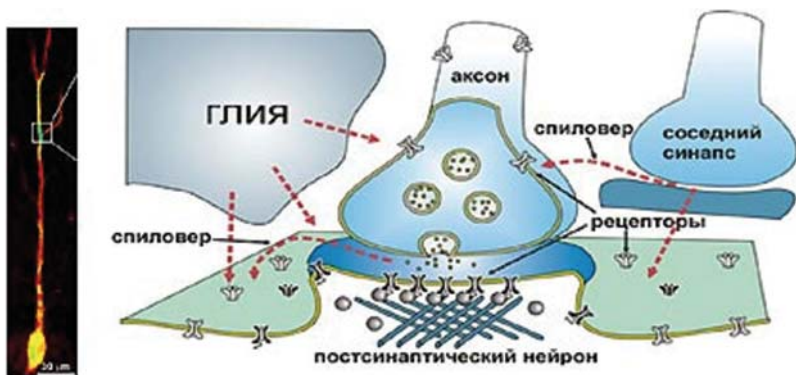


Рис. 7.8. Внесинаптическая передача. Выделившийся в синаптической щели медиатор растекается за пределы синаптического контакта и активирует внесинаптические рецепторы. Внесинаптические рецепторы могут активироваться медиатором, диффундирующим из соседнего по отношению к данному нейрону синапса. Также показана утечка медиатора — спиловер (по: Семьянов, 2003).

7.3.1. Источники диффузного сигнала

Описано несколько источников сигнала диффузной внесинаптической передачи (рис. 7.9). Высвобождение нейротрансмиттера во внеклеточное пространство может происходить за счет обратно направ-

ленного захвата глутамата и ГАМК. Существуют специальные транспортные системы, которые обеспечивают захват медиаторов из внеклеточного пространства. Найдено несколько транспортеров, которые переносят глутамат через мембрану глиальных клеток и нейронов.

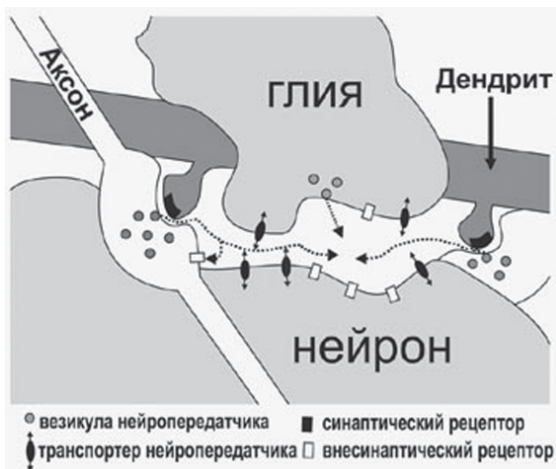


Рис. 7.9. Источники диффузного внесинаптического медиатора: (1) обратный направленный транспорт медиатора из нейрона во внеклеточное пространство, (2) выделение медиатора из глиальной клетки и (3) спilloвер медиатора от близкорасположенных синапсов. Пунктирными стрелками обозначено направление диффузии медиатора. Внесинаптические рецепторы, расположенные на пресинаптических терминалях, выполняют функцию ауторецепторов.

Работа транспортеров глутамата основана на градиенте ионов Na^+ , K^+ и самого медиатора. Процесс транспорта является электрогенным, поскольку внутрь клетки переносится положительный заряд. При гиперполяризации захват глутамата из внеклеточного пространства усиливается, а при деполяризации, напротив, подавляется.

Транспорт глутамата является симметричным процессом и может происходить в обоих направлениях. В зависимости от электрохимического градиента ионов Na^+ , K^+ , самого глутамата и потенциала мембраны глутамат будет либо поглощаться внутрь клетки, либо высвобождаться во внеклеточное пространство. Таким образом, обратный направленный захват глутамата транспортерами является источником внеклеточной концентрации этого медиатора.

Аналогичные транспортные системы найдены также и для ГАМК. Транспортеры ГАМК могут транспортировать ее через мембрану в обоих

направлениях. Изменение направления транспорта может происходить при изменении градиента Na^+ , деполяризации мембраны и подавлении активности ГАМК-трансаминазы.

Кроме самих нейронов, глиальные клетки также обладают механизмом высвобождения медиаторов посредством экзоцитоза. Такой экзоцитоз является Ca^{2+} -зависимым процессом и может запускаться при активации глиальных глутаматных рецепторов.

Еще одним источником внеклеточных глутамата и ГАМК является диффузия этих медиаторов из синаптической щели (спиловер).

7.3.2. Приемники диффузного сигнала

Приемниками в диффузной медиаторной передаче являются внесинаптические рецепторы, чувствительные к данному медиатору (рис. 7.10). Собственно синаптические рецепторы, расположенные на постсинаптической мембране в месте экзоцитоза медиатора, также способны активироваться диффузным глутаматом или ГАМК. Однако из-за относительно низкой аффинности синаптические рецепторы незначительно активируются низкими концентрациями диффузно выделяемого медиатора.

Основным механизмом удержания высокомолекулярного комплекса рецептора в синапсе является его взаимодействие с белками цитоскелета. Таких адаптерных белков, удерживающих рецепторы в синапсе, обнаружено достаточно много. Взаимодействие рецепторов с адаптерными белками, которое приводит к изменению числа рецепторов, регулируется рядом факторов. Таким образом, метаболические реакции в клетке способны менять синаптическую эффективность, изменяя число синаптических рецепторов за счет их перемещения во внесинаптический пул рецепторов и обратно. С другой стороны, изменение числа рецепторов во внесинаптическом пуле может оказывать влияние на эффективность диффузной нейротрансмиссии.

Как и синаптические, внесинаптические рецепторы управляют либо ионным током, либо активируют метаболические внутриклеточные каскады. Естественно, ключевым фактором является тип нейрона, в котором возникает ответ на диффузный сигнал. Так, повышение возбудимости пирамидных клеток гиппокампа будет приводить к общему повышению возбудимости всей структуры в отличие от повышения возбудимости иннервирующих их тормозных интернейронов. В последнем случае будет происходить повышение торможения пирамидных клеток.



Рис. 7.10. Синаптические и внесинаптические рецепторы. Внесинаптические рецепторы находятся за пределами синаптического уплотнения, как на постсинаптической клетке, так и пресинаптической терминали. Рецепторы, взаимодействующие с адапторными белками (РАБ), способны образовывать кластеры напротив места синаптического экзоцитоза. Таким образом адапторные белки связывают данные рецепторы с белками цитоскелета. При разрыве такой связи РАБ способны покидать синапс и перемещаться во внесинаптическую мембрану. Рецепторы, не взаимодействующие с адапторными белками (РНАБ), находятся преимущественно вне синапсов.

Помимо типа нейрона, эффект активации внесинаптических рецепторов зависит от участка нейрона, на котором они расположены. Активация пресинаптических метаботропных рецепторов влияет на высвобождение медиатора. С другой стороны, активация аксональных и сомато-дендритных ионотропных внесинаптических рецепторов приводит к деполяризации или гиперполяризации мембраны. Такие изменения потенциала мембраны влияют на порог генерации потенциалов действия, на паттерн импульсных разрядов и на кинетику синаптических токов.

Таким образом, диффузный глутамат и ГАМК обеспечивают различные типы сигнализации в нейронных сетях. С одной стороны, изменение возбудимости нейрона при активации его ионотропных внесинаптических рецепторов диффузным медиатором аналогично возбуждающей или тормозной синаптической передаче (сигнальная функция). С другой стороны, синаптическая и диффузная передачи обладают сложным механизмом взаимодействия друг с другом. Спи-

ловвер медиатора при синаптическом событии является источником диффузного сигнала. Активация пресинаптических рецепторов диффузным медиатором изменяет эффективность синаптической передачи (модуляторная функция).

Помимо глутамата и ГАМК, некоторые медиаторы (моноамины, ацетилхолин, пурины и др.) в ЦНС выполняют модуляторную функцию. В этом случае медиаторы не вовлекаются непосредственно в процессы синаптического возбуждения или торможения, а оказывают на них модулирующее влияние. Например, сбалансированная работа синаптического возбуждения/торможения и нейромодуляторных систем лежит в основе передачи и обработки информации в гиппокампе, а также генерации его ритмов.

7.4. Пресинаптический кальций: функция, регистрация и утилизация. Постсинаптические потенциалы и токи. «Быстрые» и «медленные» синапсы

Скорость передачи сигнала в синапсе является одним из основных параметров при эволюционном выборе механизма межнейронного соединения. Основное преимущество электрического способа передачи сигнала между клетками является скорость проведения сигнала, то есть отсутствие синаптической задержки. Но и для химических синапсов скорость проведения часто определяет эволюционный выбор синапса данного типа (например, «чашечки Хелда»). Длительность синаптической задержки в химических синапсах в отличие от электрических может меняться, то есть является одним из факторов синаптической пластичности. В химических синапсах величина синаптической задержки определяется несколькими причинами:

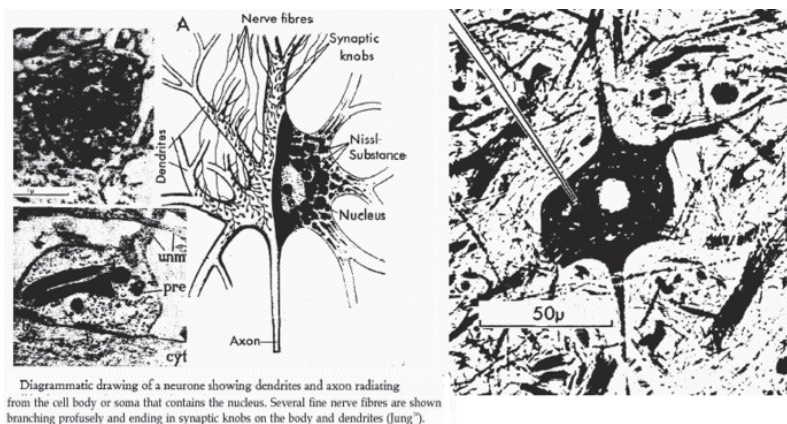
— параметрами пресинапса (тип медиатора, тип и количество ионных каналов, вероятность выброса кванта медиатора (из 1 везикулы), число и расположение активных зон и число готовых к выбросу медиатора везикул, состояние пресинаптических «хелаторов»: кальциевых депо и т. д.);

— параметрами синаптической щели (ширина, ионный состав, ферменты, утилизирующие медиатор, и ферменты обратного захвата медиатора);

— параметрами постсинапса: тип рецепторов (ионо- и метаботропные); число и расположение рецепторов (постсинаптические уплотнения).

7.5. Возбуждающие и тормозные синапсы

Одним из оснований для разделения медиаторов на типы долгое время служил эффект, который они вызывают (рис. 7.11). Говорили о возбуждающих и тормозных медиаторах и, соответственно, синапсах. Но это неправильно (вернее, правильно не абсолютно). Один и тот же медиатор может выполнять и возбуждающую, и тормозную функцию.



А

Б

Рис. 7.11. Классификация синапсов по результату действия: возбуждающие и тормозные синапсы. Возбуждение и торможение, по Дж. Экклсу (1966). Рисунок нейрона, от тела которого отходят дендриты и аксон и к которому подходят аксонные терминалы других нейронов. Оригинальные рисунки из: Sir John Carew Eccles — Nobel Lecture, December 11, 1963: The Ionic Mechanism of Postsynaptic Inhibition (по: Экклс, 1966).

7.6. Эргичность. Медиаторы: нейротрансмиттеры и нейромодуляторы, комедиаторы

Медиаторная специфичность химического синапса (эргичность) является одной из основных его характеристик. Необходима идентификация вещества, передающего сигналы в синаптическом соединении. Наиболее часто используемые названия для таких химических посредников — это медиатор (от латинского *mediator* — посредник, или нейромедиатор) и трансмиттер (нейротрансмиттер).

В настоящее время определена медиаторная функция для десятков химических веществ (сотен — с вариациями для медиаторов-нейропептидов). Почему нейроны различаются по эргичности? Этот вопрос

требует специального, эволюционного, рассмотрения (Сахаров, 1990). Эволюционный подход дал однозначный ответ: «Химическое разнообразие синаптических механизмов, представленных в нашем мозге, обусловлено...условиями возникновения нервной системы у примитивных многоклеточных животных.» (Сахаров, 1974, с. 164).

7.7. Классификация синапсов по источнику и мишени, сложные синапсы

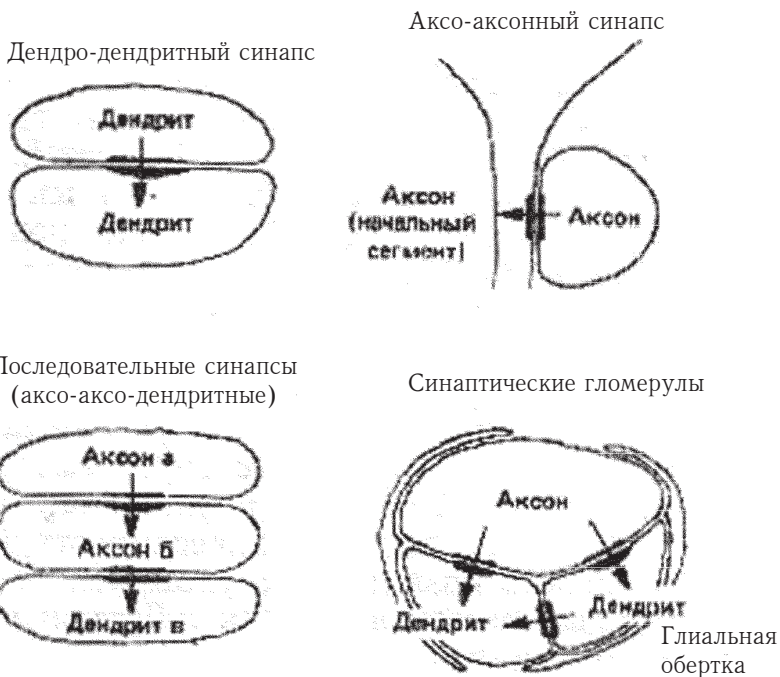


Рис. 7.12. Классификация синапсов по источнику и мишени. Синапсы, различающиеся по типу пресинаптического волокна, по постсинаптической мишени и по сложности. Обнаружены все варианты контактов: аксо-дендритные (А-Д), — аксо-аксональные (А-А), аксо-соматические (А-С), дендро-дендритные (Д-Д), соматические, дендро-аксональные (Д-А) и их сочетания, сложные синапсы, синаптические гломерулы (А-А-Д, А-Д-Д) (Шеперд, 1987).

Распространенный способ классификации синапсов — по обозначению структуры пре- и постсинаптических нейронов, формирующих синапс (Шеперд, 1987). Термины аксо-дендритный, аксо-соматический

и аксо-аксональный (с соответствующей аббревиатурой) прочно вошли в литературу по нейронаукам. Показана возможность формирования контактов всех возможных типов. Так, термины дендро-дендритный синапс или дендро-аксональный синапс сегодня не удивляют, хотя вызывают споры. Например, возникает вопрос о «дендритных спайках». Возможность генерации ПД в дендритах экспериментально показана, но пока эти данные считаются исключением из общего правила об электротоническом проведении потенциалов в дендритах. Экспериментально показано и существование устойчивых синаптических структур, образованных более чем двумя клетками. Например, есть данные о «последовательных» аксо-аксо-дендритных и аксо-дендро-дендритных синапсах (рис. 7.12). Боковые (латеральные) и возвратные (обратные) связи между нейронами являются для НС скорее правилом, чем исключением.

Споры возникают из-за кажущегося нарушения принципа «динамической поляризации» нейрона. Но с нарастающим потоком данных о распространенности в НС «обратных связей» приходится считаться. Другое дело, что большинство таких связей реализуется с помощью химических, но не синаптических механизмов взаимодействия нейронов (объемная передача, параэндокринное взаимодействие. Роуз, 1995, Сахаров, 1990). Об этом говорят и данные об общности рецепторных механизмов при синаптическом и несинаптическом способах взаимодействия нейронов.

7.8. Обратные посредники

Рецепторы нейромедиаторов находятся не только на постсинаптической мембране, но и в области пресинаптической терминали. Для некоторых рецепторов (например, H_3 — рецепторы гистамина, HA) пресинаптическая авторегуляция является типичным способом функционирования («аутосинапсы»). По паракринному способу передачи сигнала (объемная передача) функционируют другие, «обратные посредники», передающие сигнал через специализированные рецепторы (нейротрофины, нейротропины и их TRK-R). Обратные посредники (рис. 7.13) рассматриваются как обязательное звено передачи сигналов в пластичных синапсах («подкрепление» на клеточном уровне). Не все обратные посредники передают сигнал, активируя рецепторы и влияя на эффективность синаптической передачи через другие механизмы (инозитол-фосфат, IP_3 , NO и Ca^{2+}).

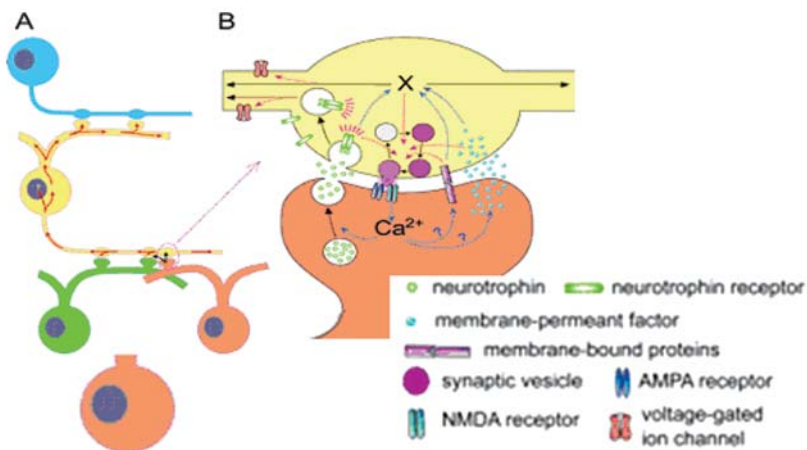


Рис. 7.13. Обратные посредники.

7.9. Идентифицируемые нейроны и синапсы

Многообразие типов нервных клеток в мозге, в том числе функциональное, предполагает разнообразие синаптических контактов между ними. И это действительно так. Поэтому один из наиболее распространенных способов классификации синапсов — это определение через название контактирующих клеток. Самое общее определение — по функции, например, нервно-мышечный синапс, сенсо-моторный синапс. Более детальное — через название афферентного волокна, формирующего синапс, и название постсинаптического нейрона. Например, синапс между мшистыми волокнами и клеткой Пуркинье мозжечка или синапс между лазающими волокнами и пирамидными нейронами поля СА3 гиппокампа. В последнее время все большее распространение находит обозначение «идентифицированные синапсы млекопитающих». Началом этому было изучение синаптических контактов между индивидуально идентифицированными нервными клетками беспозвоночных животных, например, у моллюсков межнейронные синапсы определялись по номенклатуре идентифицированных нейронов (Кэндел, 1980).

Возможность сочетания в одном исследовании морфологических, электрофизиологических, молекулярно-генетических и т.п. методов в сочетании с развитием компьютерной техники позволило значительно продвинуться в понимании функционирования мозга на клеточном и

молекулярном уровнях. А возможность идентификации нейронов, то есть возможность совместного использования количественных данных, полученных в разных лабораториях, объединяемых моделями, и проверяемых с помощью их компьютерной реализации, позволяет говорить о «нанонейронике» (Соколов, 2006). Новый пик робототехники в начале нового тысячелетия является во многом отражением достижений нейронаук на этом, нанонейронном, уровне.

Механизмы функционирования синаптических контактов на нанонейронном уровне можно представить на конкретных примерах идентифицированных синапсов беспозвоночных животных (на «простых нервных системах») и млекопитающих.

К идентифицированным синапсам относят:

— Идентифицированные синапсы моллюсков (аплизия и виноградная улитка).

— Идентифицированные синапсы позвоночных: нервно-мышечные соединения, хромаффинные клетки, сетчатка, центральные синапсы млекопитающих.

Идентифицированными называют синапсы между идентифицированными нейронами (Соколов, 2003). Под идентифицируемым нейроном понимают такую нервную клетку, которую можно надежно определить по ее локализации в НС, размеру, типу электрической активности, реакции на стимулы и по другим параметрам от эксперимента к эксперименту. Такому требованию прежде всего соответствуют гигантские нейроны виноградной улитки, которые расположены на поверхности ганглиев, доступны наблюдению и удобны для внутриклеточной регистрации.

Существует и более широкое значение термина «идентифицируемый нейрон». Это нейрон определенного морфологического, физиологического и функционального типа в определенной структуре мозга. Такие нейроны можно идентифицировать на препаратах нервной системы высших животных, включая млекопитающих, хотя об индивидуальной идентификации, как в нервной системе моллюсков, говорить не приходится. Тем не менее, понятие об «идентифицируемом синапсе» для нервной системы беспозвоночных и млекопитающих полностью совпадает. Для идентификации синапса основным требованием является возможность одновременной внутриклеточной регистрации активности пре- и постсинаптического нейронов. Такую одновременную регистрацию чаще называют «парной». Главное требование для парной регистрации — идентификация пре- и постсинаптического нейронов.

Парная регистрация возможна для идентифицированных нейронов высших животных, включая млекопитающих (рис. 7.14).

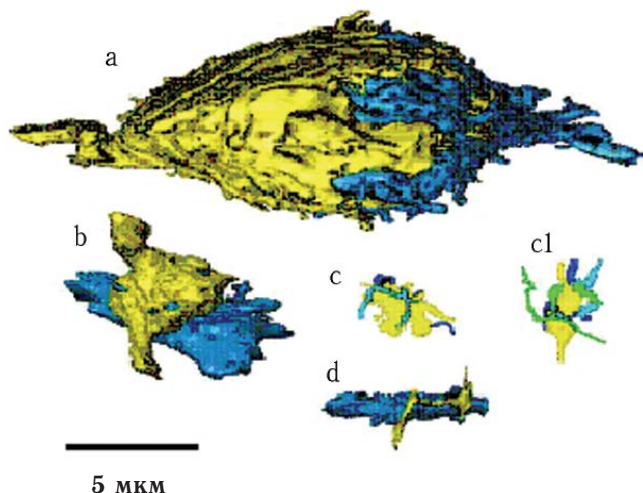


Рис. 7.14. Компьютерная трехмерная объемная реконструкция четырех центральных синапсов с сохранением пропорций в размере (Rollenhagen and Lübke. 2006).

a. Чашечка Хелда — главный нейрон (MNTB), гигантский синапс в медиальном ядре трапецевидного тела в слуховой системе млекопитающих (мышь, крыса, кошка).

b. Синапс между мшистыми волокнами и пирамидными нейронами поля СА3 гиппокампа.

c-c1. Окончания мшистых волокон на дендритах гранулярных нейронов.

d. Аксо-дендритный синапс в новой коре: проходящий аксон — шипик дендрита пирамидной клетки пятого слоя неокортекса.

7.9.1. Идентифицированные синапсы моллюсков

Моллюски являются одним из излюбленных модельных объектов нейробиологов из-за возможности индивидуальной идентификации их нейронов и синапсов (рис. 7.15). Другим преимуществом нейронов моллюсков является их небольшое количество (1-10 тысяч, что на 3-6 порядков меньше, чем у позвоночных), большие размеры клеточных тел, расположение тел нейронов на поверхности ганглиев, их хорошая «выживаемость» (несколько суток на препарате в физиологическом растворе) и возможность внутриклеточной регистрации активности

нейронов на препарате, у которого сохранены некоторые функции живого организма («полуинтактные препараты») — все это создало уникальную возможность объединить эксперименты на нейронном уровне с данными поведенческих экспериментов.

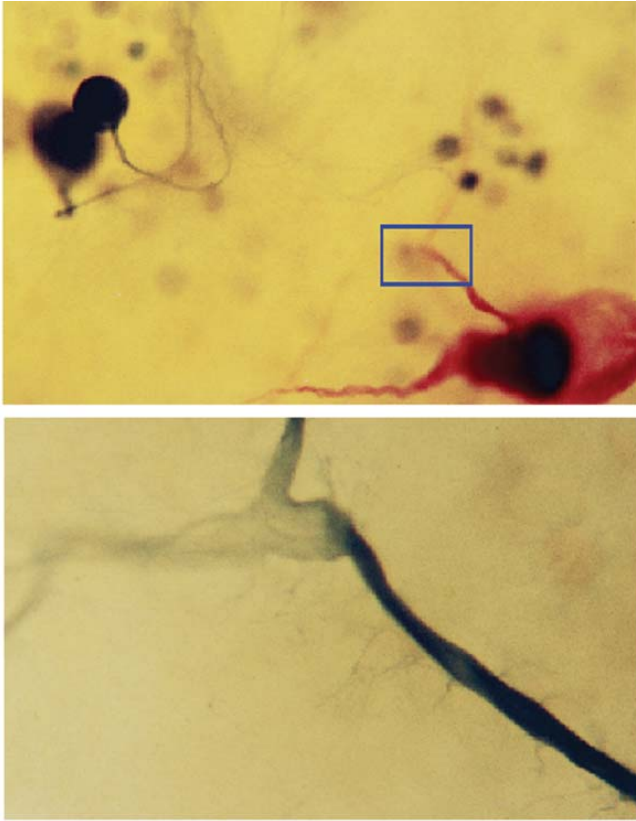


Рис. 7.15. «Простые нервные системы» — нервные системы беспозвоночных животных. Идентифицируемые нейроны и идентифицированные синапсы моллюска, виноградной улитки, *Helix pomatia* / *Helix lucorum*). Окрашенные разными методами нейроны левого и правого париетального (на схеме: LPag, RPag) и висцерального (Vg) ганглиев улитки. Красным (внутриклеточно, хлоридом кадмия) окрашен гигантский командный нейрон пассивно-оборонительного рефлекса улитки (LPa2), черным — ретроградное окрашивание нейронов кобальтом через аортальный нерв (Aortal. n.). Внизу — десятикратное увеличение области (выделено синим). Видны ответвления одного из двух основных отростков биполярного командного нейрона. Шкала по горизонтали — 100 мкм.

Преимущества морского моллюска, морского зайца, аплизии (*Aplysia*), были использованы американским нейробиологом Эриком Кэнделом для изучения памяти и научения (рис. 7.16). То, что удалось экспериментально исследовать механизмы научения и памяти на клеточном и молекулярном уровнях, было высоко оценено, и в 2000 году Эрику Кэнделу вместе с Полем Грингардом и Эрвидом Карлсоном была присуждена Нобелевская премия. Рисунки из Нобелевской лекции Э. Кэндела представлены в разделе про синаптическую пластичность.

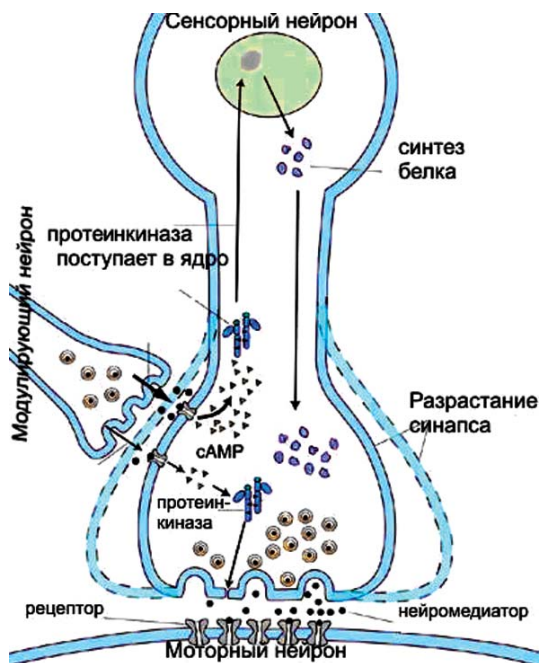


Рис. 7.16. У моллюска, морского зайца — аплизии (*Aplysia*) простая нервная система и есть оборонительный рефлекс сокращения жабр (gill). Это было использовано Эриком Кэнделом для изучения механизмов научения и памяти (Рис. из Нобелевской лекции Э. Кэндела).

7.9.2. Идентифицируемые синапсы млекопитающих

Большие размеры синапсов являются значимым преимуществом беспозвоночных животных из-за возможности одновременной внутриклеточной регистрации электрической активности пре- и постсинаптического нейронов (парной регистрации). Это преимущество было использовано

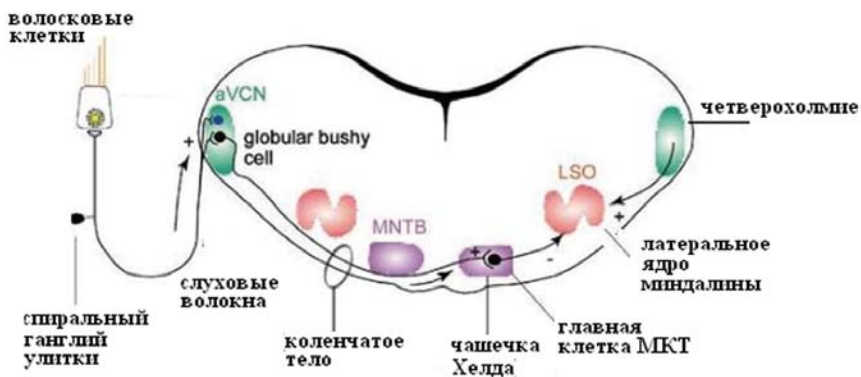


Рис. 7.17. Синапсы Хелда.

но, что привело к важным открытиям в понимании механизмов функционирования синапсов (Ллинас, 1972; Кэндел, 1980; Kandel, 2000). На позвоночных такие исследования долгое время не были доступны из-за небольших размеров пресинаптических окончаний. В конце 20-го века наше понимание механизмов функционирования синапсов позвоночных животных основывалось на данных, полученных на нескольких модельных объектах, таких, как нервно-мышечное соединение (Кац, Katz В., 1972), хромаффинные клетки цилиарного ганглия цыпленка (Роуз, 1995), нервные окончания в нейрогипофизе, синаптосомальные препараты (препараты изолированных клеток в культуре ткани). В ЦНС млекопитающих большая часть синаптических соединений является быстрыми глутаматергическими синапсами. Но долгое время такой препарат с глутаматергическими нейронами, от пресинаптических терминалей которых можно отводить внутриклеточную регистрацию с фиксацией потенциала (patch clamp), был только предметом мечтаний. Одним из кандидатов на роль такого препарата были мшистые волокна в гиппокампе, другим — гигантские синапсы, обнаруженные морфологами в слуховой системе ствола мозга: «бутоновидные окончания» Хелда (the endduls of Held) и чашечки Хелда (the caluxes of Held). Оба синапса являются глутаматергическими и расположены в проводящих путях слуховой системы, обеспечивающих локализацию источника звука (рис. 7.17). Своим названием они обязаны немецкому анатому Гансу Хелду, исследовавшему в конце 19-го века центральные пути слуховой системы кошки (Held, 1893). Используя метод окрашивания по Гольджи, Хелд обнаружил два типа гигантских синапсов, получивших впоследствии его имя: окончание Хелда и чашечка Хелда.

Эти синапсы с большим энтузиазмом изучал Сантьяго Рамон-и-Кахал (Кахал, 1985). Он получил первое изображение синапсов Хелда с большим разрешением с помощью светового микроскопа (рис. 7.18).

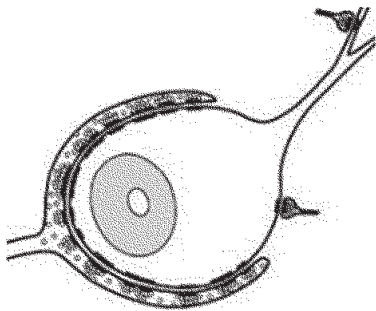


Рис. 7.18. Синапс Хелда. Рисунок одной чашечки Хелда на одном главном нейроне медиального ядра коленчатого тела (МНТВ). Клетки МНТВ получают добавочные тормозные и возбуждающие входы через небольшие бутоновидные синапсы, но в большинстве случаев одна главная МНТВ клетка получает вход только через один огромный чашечковидный синапс Хелда.

Выводы

- Основной тип связи между нервными клетками в мозге — это синаптическая связь. Основной тип синаптической связи — химические синапсы. Химическая передача сигналов осуществляется путем экзоцитоза пресинаптическими терминалями химических посредников и воздействия нейромедиаторов на рецепторы мембраны постсинаптической клетки.

- В нервной системе существуют и несинаптические способы химической передачи сигналов, например, все большее внимание привлекает объемная передача и спilloвер, «утечка» медиатора. Электрические синапсы существуют в мозге в виде исключения.

- Многообразие синапсов в нервной системе сравнимо с многообразием нейронов. Синапсы различаются по размеру (в сотни раз), по функциональным и динамическим параметрам. Химические синапсы различаются по эргичности — медиатору, передающему сигнал. Структурные и химические различия синапсов определяют их функциональные и динамические различия, такие, как сила связи, скорость проведения сигнала и синаптическая задержка, знак и эффективность воздействия. Динамические параметры синапсов определяют их пластичность.

• При всем многообразии конкретных видов и типов синапсов общие принципы их функционирования удивительно сходны на всех уровнях эволюционного развития, от беспозвоночных до высших позвоночных животных. Сходство механизмов синаптической передачи сигналов и ее пластичности наблюдается и на клеточном, и на молекулярном уровнях.

• Динамические параметры передачи сигнала могут быть смоделированы на основе данных, полученных на идентифицируемых синапсах, а результаты моделирования проверены на препаратах нервной системы и в поведенческих психофизиологических экспериментах. Компьютерное моделирование синапсов стало необходимым звеном клеточных и молекулярно-генетических исследований механизмов работы мозга и психофизиологических исследований.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Николлс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу М.: Изд. УРСС, 2003, 672 с.

2. Соколов Е. Н. Восприятие и условный рефлекс: новый взгляд. М.: УМК «Психология», 2003, 287 с.

Дополнительная

1. Албертс Б., Брей Д., Льюис Дж., Рэфф М., Робертс К., Уотсон Дж. Молекулярная биология клетки. М.: Мир. 1994, т. 2, гл. 12, с. 338-383; т. 3, гл. 16: с. 67, 78, 81, 94-100, гл. 19: с. 287-375.

2. Анохин К. В. Молекулярные сценарии консолидации долговременной памяти // Журн. высш. нервн. деят., 1997. т. 47, №2, с. 261-286 (Хрестоматия по физиологии ВНД, УМК «Психология», Москва 2000, с. 217-230).

3. Анохин П. К. (ред.) Системный анализ интегративной деятельности нейрона. М.: Наука, 1974. 158 с.

4. Ашмарин И. П. Загадки и откровения биохимии памяти / Под ред. акад. Е. М. Кребса. Л.: Изд-во Ленинградского Университета, 1975, 160 с.

5. Ашмарин И. П., Кругликов Р. И. Пептиды, обучение, память (принцип полифункциональности). Нейрохимия, 1983, т. 2. №3. С. 327.

6. Блум Ф., Лейзерсон А., Ховстедтер Л. Мозг, разум и поведение. М.: Мир, 1988. 64 с.

7. Балабан П. М., Захаров И. С. Обучение и развитие: общая основа двух явлений. М.: Наука, 1992. 152 с.

7. Виноградова О. С. (2000) Нейронаука конца второго тысячелетия: смена парадигм // Журн. высш. нервн. деят. 2000. Т. 50. №50. С. 743-774.

8. Гомазков О. А. Нейротрофическая регуляция и стволовые клетки мозга. М.: Изд-во ИКАР, 2006, 332 с.
9. Гомазков О. А. Мозг и нейропептиды. 1997; Нейропептиды и ростовые факторы мозга. 2002; Нейрохимия возрастных ишемических заболеваний мозга. 2003.
10. Греченко Т. Н. Нейро-физиологические механизмы памяти. М.: Наука, 1979. 165 с.
11. Кибяков А. И., Сахаров Д. А. Рассказы о медиаторах. М.: Знание, 1978. 64 с.
12. Куффлер С., Николс Дж. От нейрона к мозгу. М.: Мир. 1979.
13. Кэндел Э. Клеточные основы поведения. М.: Мир, 1980. 598 с. Kandel E. R. (2000) The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2000. (Kandel_Nobel lecture_2000.ppt).
14. Окс С. Основы нейрофизиологии. М.: Мир, 1968. Гл. 1-8.
15. Первис Р. Микроэлектродные методы внутриклеточной регистрации и ионофореза. М.: Мир, 1983. Регистрация от одиночных ионных каналов. М.: Мир, 1987.
16. Прибрам К. Языки мозга. М.: Мир, 1975. С. 17-64.
17. Роуз С. Устройство памяти: от молекул к сознанию М.: Мир, 1995. 380 с.
18. Сахаров Д. А. Генеалогия нейронов. М.: Наука, 1974. 183 с.; Сахаров Д. А. Медиаторная специфичность нейронов: происхождение и эволюция. М., 1973. 46 с.
19. Сахаров Д. А. (1990) Множественность нейротрансмиттеров: функциональное значение. Журн. эвол. биохим. и физиол., 1990, т. 26, №5, с. 733-749.
20. Свердлов Е. Д. Очерки современной молекулярной генетики. // Молек. генет. микробиол. и вирусол. 1995, №№ 2, 3, 4, 5, 1996 №5, 1997 №4.
21. Сентаготаи Я., Арбиб М. Концептуальные модели нервной ткани. М.: Мир, 1976. 198 с.
22. Соколов Е. Н., Шмелев Л. А. Нейробионика. М.: Наука, 1983.
23. Соколов Е. Н. Нейронные механизмы памяти и научения. М.: Наука, 1981. 181 с.
24. Сторожук В. М. Нейронные механизмы обучения. Киев: Наук. Думка, 1986. 264 с.
25. Шаповалов А. И., Ширяев Б. И. Передача сигналов в межнейронных синапсах. Л.: Наука, Лен. отд., 1987. 173 с.
26. Шеперд Г. Нейробиология: В 2-х т. М.: Мир, 1987. 454 с.
27. Шмидт Р. и Тевс Г. (Ред.) Физиология человека. М.: Мир, 1996. В 4-х т.
28. Эделман Дж., Маунтклас В. Разумный мозг. М.: Мир, 1981. 135 с.
29. Basic Neurochemistry. 6th Edition. Eds.: G. J.Siegel, B. W. Agranoff, R. W. Alberts, S. K. Fisher, M. D. Uhler. Part two: Intercellular signaling.
30. Cell and Tissue Research/ September. Biomedical and Life Sciences and Medicine. Springer Berlin / Heidelberg 23, 2006, v.326, pp. 201-669.
31. Klaus Unsicker (from the Editor:) The synapse — recent advances. P. 201;
32. Frotscher M., Gundelfinger E., Jonas P., Neher E., Seeburg P. (Editorial) The most important advances in synapse research from my point of view — and what remains to be done. P. 203-204.

33. Jan L. Gibbins and Judy L. Morris Structure of peripheral synapses: autonomic ganglia. Review, pp. 205-220.
34. Astrid Rollenhagen and Joachim H.R. Lübke The morphology of excitatory central synapses: from structure to function. (Review), pp. 221-237.
35. Scheggenburger, Ralf and Forsythe, Jan D. The Calyx of Held. (Review), pp. 311-337.
36. Анохин П. К. Узловые вопросы теории функциональной нервной системы. М.: Наука, 1980, 196 с. (Петр Кузьмич Анохин (1898-1974). М.: Наука, 1987. 128 с.
37. Виноградова О. С. Гиппокамп и память. М.: Наука, 1975. 333 с.
38. Кахаль С. Р. Автобиография (воспоминания о моей жизни) / Под ред. А.В. Смольяникова и Д.С. Саркисова. Пер. с англ. М.: Медицина, 1985. 272 с.
39. Katz B. (Katz B.) The release of the neural transmitter substances. Liverpool University Press, Liverpool, 1969.
40. Павлов И. П. Избранные труды / Ред. Э. А. Асратян. М.: Изд-во Академии педагогических наук РСФСР, 1951. 616 с.
41. Павлов И. П. (1926, 1927, 1935, 1952) Лекции о работе больших полушарий головного мозга. Москва: Академия медицинских наук СССР, 1952. 287 с.
42. Сеченов И. М. Рефлексы головного мозга: Попытка свести способ происхождения психических явлений на физиологические основы. С биографией И. М. Сеченова (М. Н. Шатерников, с. 5-24). М.: Комкнига (Из наследия мировой психологии), 2007, 127 с.
43. Соколов Е. Н. Восприятие и условный рефлекс. М.: Издательство МГУ им. М. В. Ломоносова, 1958.
44. Соколов Е. Н. Механизмы памяти (опыт экспериментального исследования). Изд-во Московского Университета, 1969. 176 с.
45. Сомьен Дж. Кодирование сенсорной информации (George Somjen, 1972. Sensory Coding in the mammalian nervous system). М.: Мир, 1975. 415 с.
46. Тасаки И. Проведение нервного импульса. М.: Иностранная литература, 1957. 187 с.
47. Тасаки И. Нервное возбуждение. М.: Мир, 1971. 222 с.
48. Теория химической передачи нервного импульса (этапы развития). Сост. Михельсон М. Я. Л.: Наука, Ленинградское отд., 1981. 144 с.
49. Ходжкин А. Нервный импульс. М.: Мир, 1965, 125 с. (Hodgkin A.L. The Conduction of the Nervous Impulse/Liverpool University Press, 1964).
50. Экклс Дж. Физиология нервных клеток. М.: Иностранная литература, 1959. 298 с.
51. Экклс Дж. Физиология синапсов. М.: Мир, 1966. 395 с. (Перевод с англ. О.С. Виноградовой. Под ред. и с предисловием П. К. Анохина) / John Carew Eccles (1964) The physiology of synapses. Springer-Verlag, Berlin, Gettengen, Heidelberg.
52. Hebb D. O. (McGill Univ.) The Organization of Behavior/ A Neuropsychological Theory. USA, N.Y., John Wiley & Sons, Ink.; London, Charman & Hall, Limited, 1949, P. 335.
53. Sir John Eccles — Nobel Lecture, December 11, 1963: The Ionic Mechanism of Postsynaptic Inhibition.

Глава 8. СИНАПТИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ

В главе рассмотрены механизмы пресинаптической и постсинаптической пластичности. В основе пресинаптической пластичности лежат внутриклеточные каскады, иницируемые серотином в пресинаптическом нейроне. Пресинаптическая пластичность определяется усилением (или уменьшением) выделения медиатора из пресинаптического нейрона. Постсинаптическая пластичность связана с изменением состояния и числа рецепторов постсинаптической мембраны. Кратковременная пластичность обусловлена процессами, происходящими в мембранах синаптических контактов. При долговременных модификациях синаптической передачи дополнительно иницируются процессы экспрессии генов с последующим синтезом различных белков-регуляторов, факторов роста активных зон и синапсов в пресинаптических мембранах и синтезом мембранных рецепторов в постсинаптических мембранах. Синаптическая пластичность рассматривается как клеточная основа памяти и обучения.

8.1. Типы синаптической пластичности

Синаптическая пластичность заключается в изменении эффективности синаптической передачи в результате интенсивной ритмической стимуляции афферентных путей нейрона. В результате такая стимуляция может либо увеличивать (синаптическая сенситизация, фасилитация, облегчение, потенциация), либо уменьшать (синаптическая депрессия) результирующие постсинаптические потенциалы (ПСП) в постсинаптическом нейроне.

По временному критерию изменение эффективности может быть кратковременным (сотни миллисекунд, секунды, минуты) и долговременным (часы и дни). К кратковременным эффектам относят фасилитацию, усиление и кратковременную депрессию. Относительно мощный высокочастотный залп стимулов (тетанизация) вызывает более продолжительный эффект — посттетаническую потенциацию, которая заключается в увеличении амплитуды ПСП в течение десятков минут. Тетанизация может вызывать и более длительное усиление ПСП в нейронах, называемое долговременной потенциацией (ДВП), или ослабление ПСП, называемое долговременной депрессией (ДВД), продолжающееся часы и даже дни.

По механизму такие изменения могут быть локализованы в пресинаптическом и постсинаптическом нейронах. Многообразие пресинаптических механизмов заключается, в конечном счете, в увеличении выброса медиатора из пресинаптического волокна. Постсинаптические механизмы приводят к увеличению чувствительности постсинаптической мембраны к медиатору — сенситизации рецепторов (усилению эффективности связывания с медиатором или увеличению проводимости в канале) — и увеличению числа рецепторов.

Современные модели синаптической пластичности основаны на результатах, полученных при изучении нейронной организации примитивного поведения моллюсков и феномена длительной потенциации на переживающих срезах гиппокампа и коры млекопитающих.

8.2. Пресинаптическая пластичность

Механизмы пресинаптической пластичности изучаются на относительно простых нейронных моделях моллюсков — аплизии (*Aplysia*) и виноградной улитки (*Helix lucorum*). Эти животные имеют относительно простую нервную систему из нескольких ганглиев, состоящих из больших (до 1 мм), легко идентифицируемых нейронов. Такая простая нервная система является удобным объектом для анатомических, биофизических и биохимических исследований. Примитивное поведение этих животных обеспечивается активностью нескольких нейронов, образующих простую нервную сеть. Некоторые примитивные поведенческие акты могут модифицироваться в результате обучения. При этом участки в нервной сети, которые обеспечивают эти модификации, могут быть идентифицированы. Поэтому нейронные механизмы, лежащие в основе модификаций поведения моллюсков, поддаются экспериментальному анализу и моделированию.

8.2.1. Кратковременная фасилитация сенсомоторных связей в нервной системе моллюсков

Не вдаваясь в подробности поведенческих экспериментов, рассмотрим некоторые феномены, которые отражают изменения в постсинаптических ответах мотонейронов, обеспечивающих простые поведенческие реакции моллюсков. Поведенческие ответы аплизии обеспечиваются простой нейронной сетью, состоящей из нескольких нейронов (рис. 8.1). Механическое или электрическое раздражение кожи сифона вызывает активацию сенсорного нейрона, аксонная коллатераль которого оканчивается на мембране моторного нейрона (рис. 8.1, снизу).

Выделившийся из сенсорного нейрона медиатор глутамат вызывает ВПСП в мотонейроне (рис. 8.2, слева), который, в свою очередь, активируя мышцы жабры, вызывает оборонительную реакцию — втягивание жабры в полость тела.

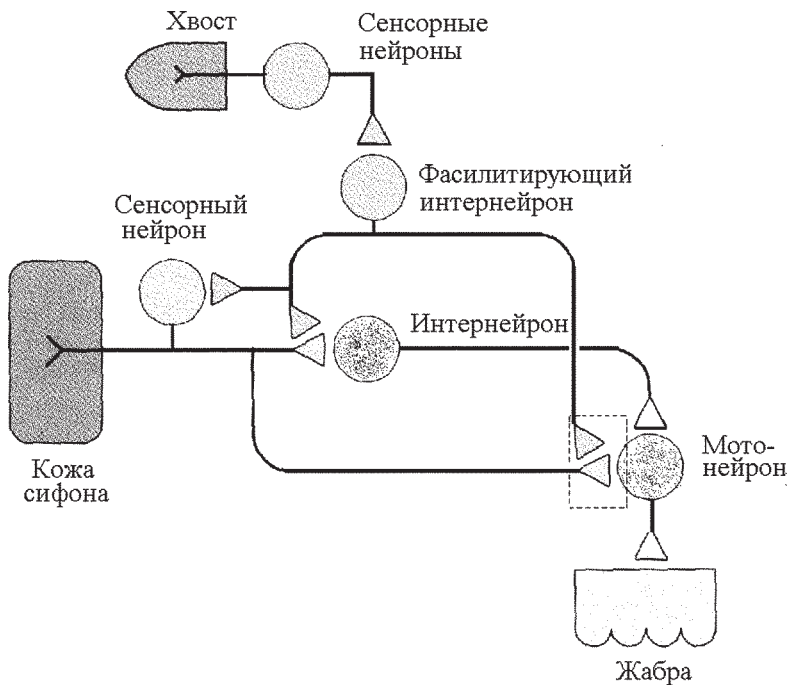


Рис. 8.1. Нейронная сеть, обеспечивающая оборонительную поведенческую реакцию аплизии. Пунктиром выделен фрагмент, включающий мотонейрон и аксонные терминали сенсорного нейрона и фасилитирующего интернейрона.

Усиление такой простой реакции получают, добавляя возбуждение другой части тела, например, хвоста. Механическое или электрическое раздражение хвоста возбуждает сенсорный нейрон, который, в свою очередь, активирует фасилитирующий интернейрон (рис. 8.1, сверху). Аксонные терминали интернейрона оканчиваются в том числе и на пресинаптических терминалях сенсорного нейрона (от сифона), иннервирующего мотонейрон. Выделяющийся из фасилитирующего интернейрона серотонин оказывает модулирующее действие на синаптическую передачу от сенсорного нейрона, иннервирующего кожу сифона, к моторному нейрону. Модулирующее влияние серотонина приводит к

увеличению выброса медиатора из сенсорного нейрона, что вызывает увеличение амплитуды ВПСП в мотонейроне (рис. 8.2, справа) и сенситизацию оборонительной реакции моллюска.

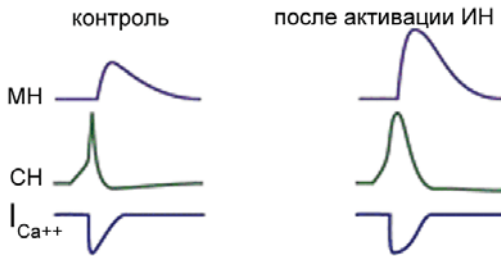


Рис. 8.2. ВПСП мотонейрона (МН) и сенсорного нейрона (СН) в ответ на стимуляцию только кожи сифона (слева) и при дополнительной стимуляции хвоста (справа). $I_{Ca^{2+}}$ — Ca^{2+} -ток, входящий в аксонную терминаль сенсорного нейрона. Объяснения в тексте.

Роль серотонина в механизме сенситизации оборонительной реакции моллюска подтверждают эксперименты с прямой аппликацией серотонина на пресинаптическую мембрану сенсорного нейрона. Прямое действие серотонина вызывает усиление двигательного ответа так же, как и механическая или электрическая стимуляция хвоста.

8.2.2. Молекулярные механизмы кратковременной фасилитации

Взаимодействуя с мембранными рецепторами пресинаптической мембраны сенсорного нейрона, серотонин через $5HT_4$ -рецепторы инициирует каскады синтеза цАМФ, активируя через G_s -белки аденилатциклазу (рис. 8.3). цАМФ активирует цАМФ-зависимую протеинкиназу А, которая фосфорилирует потенциал-зависимые K^+ -каналы. Фосфорилирование этих каналов уменьшает K^+ -проводимость (рис. 8.3, путь 1), что приводит к удлинению деполяризации и увеличению продолжительности Ca^{2+} -токов (рис. 8.2), текущих через каналы N-типа.

Кроме того, протеинкиназа А фосфорилирует потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы L-типа, устраняя их инактивацию, что приводит к еще большему притоку Ca^{2+} в пресинаптическую терминаль (рис. 8.3, путь 3).

Избыточный Ca^{2+} в комплексе с белком калмодулином активирует Ca^{2+} /калмодулин-зависимую протеинкиназу II (CaMK II) (не показано). Эта протеинкиназа фосфорилирует белок везикул синапсин, ос-

лабляя его связь с актиновыми нитями цитоскелета, которые удерживают везикулу в цитоплазме. В результате увеличивается мобилизация везикул из их общего пула в активной зоне, и они в большем количестве транспортируются к месту высвобождения медиатора (рис. 8.3, путь 2). Другой белок везикулы синаптотажмин является сенсором Ca^{2+} и запускает стыковку и слияние мембраны везикулы с пресинаптической мембраной (не показано). Избыток Ca^{2+} положительно влияет на адгезию везикул с пресинаптической мембраной.

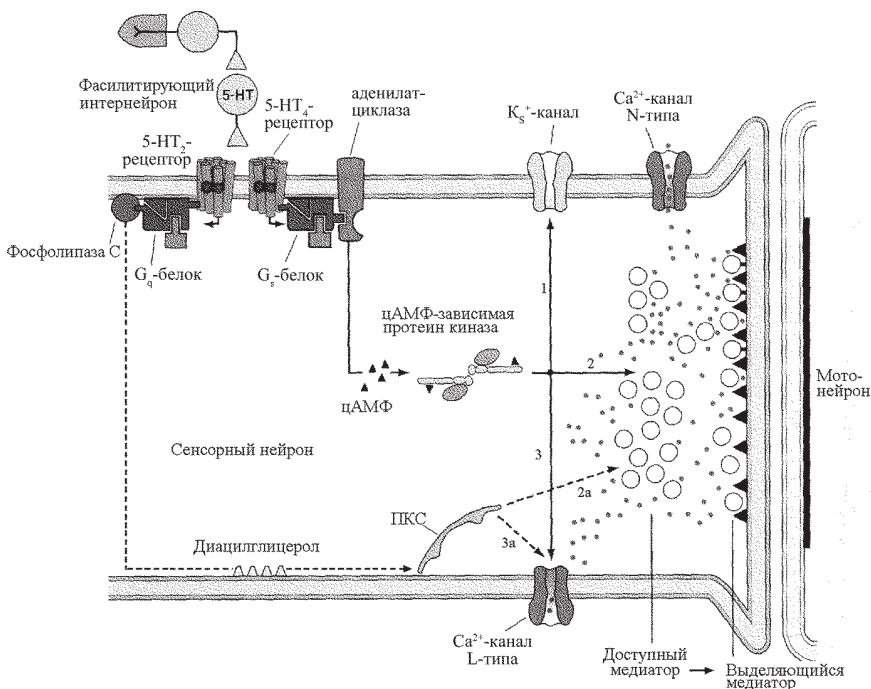


Рис. 8.3. Схема внутриклеточных каскадов механизма кратковременной сенситизации оборонительной реакции моллюска. Объяснения в тексте.

Другой серотониновый рецептор 5HT₂-типа активирует G_q-белки, которые запускают каскад мембранных липидов. Активированные G_q-белками фосфолипаза C расщепляет мембранный липид ФИФ₂ на ИФ₃ и ДАГ. Последний активирует протеинкиназу C (ПКС), мишенями которой являются Ca²⁺-каналы L-типа, а также процессы мобилизации везикул и их адгезии с пресинаптической мембраной (рис. 8.3, пути 2а и 3а).

8.2.3. Механизмы долговременной фасилитации сенсомоторных связей в нервной системе моллюсков

При определенном числе повторений гетеросинаптической стимуляции концентрация цАМФ под действием серотонина достигает высоких значений, достаточных для формирования долговременных изменений синаптической эффективности. Долговременная модификация синаптической передачи определяется функциональными и структурными изменениями, связанными с активацией экспрессии некоторых генов.

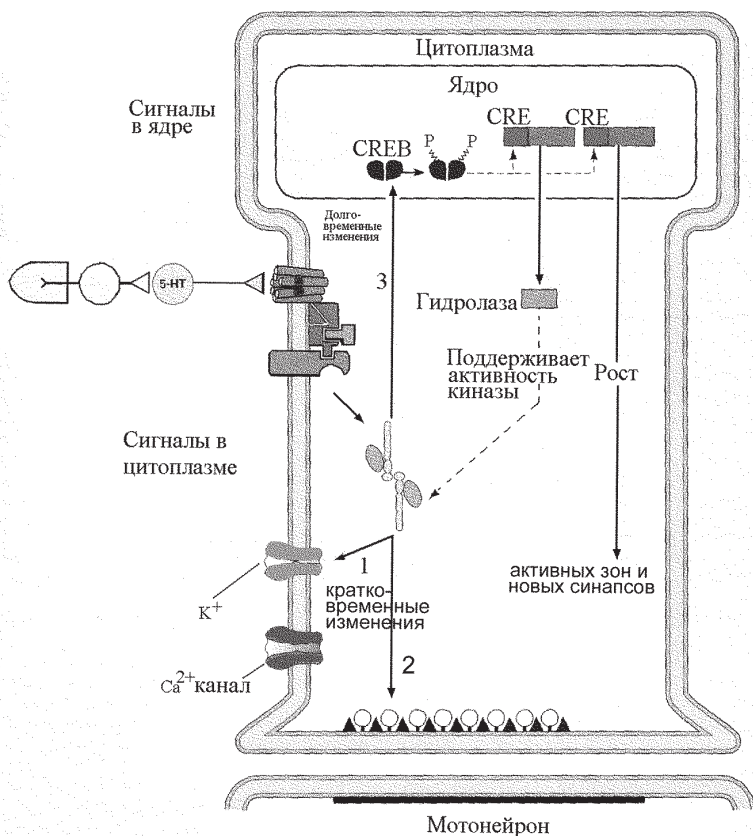


Рис. 8.4. Схема внутриклеточных каскадов механизма долговременной сенситизации оборонительной реакции моллюска. Пути 1 и 2 отражают каскады, обеспечивающие кратковременную сенситизацию (см. рис. 8.3). Объяснения в тексте.

Упрощенная схема механизма долговременной сенситизации представлена на рисунке 8.4. Серотонин, выделяющийся из фасилитирующего интернейрона, вызывает увеличение синтеза цАМФ. Ключевую роль в долговременной фасилитации играет цАМФ-зависимая протеинкиназа А, которая активирует экспрессию генов путем фосфорилирования факторов транскрипции (рис. 8.4, путь 3) — регуляторного белка АрCREB1 (*Aplysia* CRE-binding protein), идентифицированного у аплии (на рис. 8.4 обозначен как CREB). Кроме этого белка, у аплии выделен другой белок АрCREB2 (не показан) с противоположной функцией, который блокирует транскрипцию цАМФ-активируемых генов. Долговременная фасилитация достигается не только активацией факторов транскрипции, но и ингибированием репрессоров транскрипции. Так, серотонин активирует митоген-зависимую протеинкиназу (не показана), которая ингибирует репрессор транскрипции АрCREB2 путем его фосфорилирования.

Факторы транскрипции усиливают синтез, по крайней мере, десяти различных белков. Эти белки по принципу положительной обратной связи усиливают выделение медиатора из сенсорного нейрона. Один из этих белков (гидролаза, рис. 8.4) вызывает деградацию регуляторных субъединиц протеинкиназы А, что приводит к усилению функции каталитических субъединиц. Поддерживаемая активность каталитических субъединиц протеинкиназы А приводит к эффектам, обеспечивающим кратковременные изменения синаптической передачи (рис. 8.4, пути 1 и 2). Кроме того, активная протеинкиназа А поддерживает фосфорилирование АрCREB1, обеспечивая положительную обратную связь. Еще один белок способствует росту активных зон пресинаптической мембраны и развитию новых синаптических контактов.

8.2.4. Пресинаптическая пластичность командных нейронов улитки

Фокусом ассоциативной пластичности в мозге является изменение синаптических весов. Моллюски помогают понять синаптические механизмы формирования памяти (Kandel, 2000). Возможность идентифицировать нейроны и синапсы делает моллюсков излюбленной экспериментальной моделью нейробиологов (Dullock, 2000). Изменение чувствительности пресинаптических рецепторов в зависимости от постсинаптического выхода может представлять механизм ассоциативной селективности. Это предположение основано на данных эксперимен-

тального исследования идентифицированных синапсов наземной улитки (*Helix lucorum*). Гипотеза «пресинаптического ожидания» состоит в том, что пресинаптически активные терминалы меняют свою чувствительность к таким обратным посредникам, как нейротрофические факторы, выполняющим функцию «подкрепления».

Пресинаптические изменения, зависящие от постсинаптической активности, были зарегистрированы в «простых нервных системах» и в мозге позвоночных животных. Парная регистрация, одновременная внутриклеточная регистрация синаптически связанных идентифицированных нейронов виноградной улитки, показала, что даже два пресинаптических потенциала действия (ПД) вызывают увеличение амплитуды постсинаптического ответа (унитарного возбуждающего постсинаптического потенциала, унитарного ВПСП, *uEPSP*) на третий пресинаптический ПД, используемый в качестве теста. Квантовый анализ унитарных ВПСП, вызванных в командных нейронах пассивно-оборонительного поведения пресинаптическими ПД в париетальных сенсорных нейронах, показал, что у улитки кратковременная пластичность, фасилитация (от англ. *facilitate* — облегчать, помогать, способствовать — облегчение, повышение эффективности проведения сигнала), огментация (повышение амплитуды потенциала), посттетаническая потенциация и зависящая от частоты депрессия имеют пресинаптическое происхождение. Синаптические изменения (позитивная или негативная пластичность) зависят от паттерна пресинаптических ПД. Двухкомпонентная структура суммарных ВПСП (сВПСП), регистрируемых в командных нейронах улитки в ответ на одиночные сенсорные стимулы, является результатом немедленной (*immediate*) пластичности. Баланс между позитивной и негативной пластичностью проявляется в стабильности амплитуды ВПСП в ответ на ритмическую стимуляцию определенной частоты.

Гипотеза «пресинаптического ожидания» подтверждается результатами исследований на других экспериментальных моделях, включая нервно-мышечные соединения лягушки и центральные синапсы млекопитающих.

8.3. Постсинаптическая пластичность

Феномен ДВП заключается в продолжительном усилении постсинаптического ответа после тетанической активации (высокочастотной серией импульсов, 100 Гц, 50-100 стимулов) в ответ на стимуляцию входа, который до тетанизации вызывал слабый ответ. ДВП вызывается тремя способами: гомосинаптическая ДВП возникает в активи-

рованном синапсе как результат его собственной активации; гетеросинаптическая ДВП возникает в синапсе в результате активации другого синапса; разновидность гетеросинаптической ассоциативная ДВП возникает в синапсе в результате его одновременной активации с другим синапсом. Феномен ДВП впервые был обнаружен в пирамидных клетках гиппокампа и интенсивно исследуется как клеточный аналог памяти и обучения.

8.3.1. Гомосинаптическая ДВП в пирамидных клетках гиппокампа

ДВП была впервые описана Т. Блисс и Т. Ломо в глутаматэргических синапсах гиппокампа (рис. 8.5). Было показано, что короткая высокочастотная стимуляция перфорантного пути (синаптического входа к зернистым клеткам зубчатой фасции) приводит к увеличению амплитуды суммарного постсинаптического ответа этих клеток, которое сохраняется в течение десятков минут и часов, а при специальных условиях — дней, недель и даже месяцев, то есть интервалов времени, сопоставимых с поведенческой памятью.

8.3.2. Ассоциативная ДВП в переживающих срезах гиппокампа

Ассоциативная ДВП в переживающих срезах гиппокампа представляет собой результат ассоциации возбуждения двух афферентных путей. В экспериментах пирамидные нейроны поля СА1 стимулируют через два пути (рис. 8.6, А). Первый путь — это «слабая» стимуляция комиссуральных входов, которая вызывает слабый ПСП. Второй путь — «сильная» стимуляция коллатералей Шаффера (входы от нейронов СА3), которая вызывает существенно больший ПСП.

Тетанизация коротким залпом импульсов (100 Гц в течение 1 секунды, повторенный через 5 с) через «сильный» вход привела к усилению ответов, активируемых через этот же вход (гомосинаптическая ДВП, аналогичная приведенной на рис. 8.5). Тетанизация через «слабый» вход (рис. 8.6, Б, второй ответ) так же, как и тетанизация через «сильный» вход (рис. 8.6, Б, третий ответ), не оказали влияния на величину ответа, вызываемого через «слабый» вход. Однако после совместной стимуляции «сильного» и «слабого» входов наблюдалось существенное увеличение величины ответа в ответ на стимуляцию «слабого» входа (рис. 8.6, Б, четвертый ответ), продолжающееся десятки минут (рис. 8.6, В). Этот феномен в современной нейробиологии рассматривается как клеточный

аналог ассоциативного обучения (подобного синапсу Хэбба, когда стимуляция «сильного» входа ассоциируется с безусловным, а стимуляция «слабого» входа — с условным стимулами (рис. 8.7).

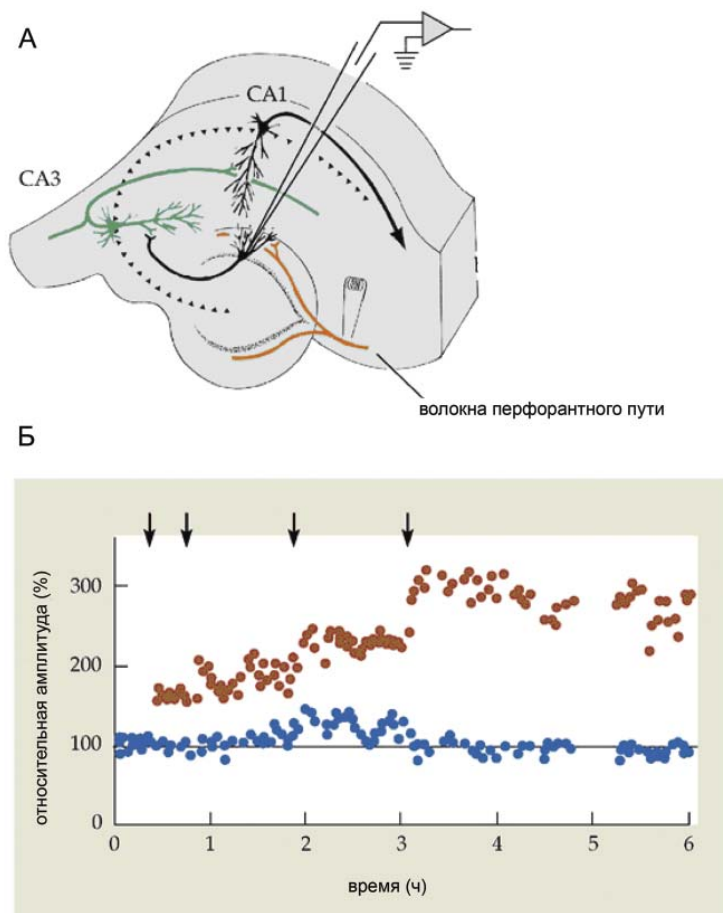


Рис 8.5. Гомосинаптическая ДВП в гиппокампе анестезированного кролика. (А) Синаптические ответы на стимуляцию перфорантного пути регистрировали в гранулярных клетках зубчатой фасции. (Б) Короткие тетанусы (15 стим./с в течение 10 с) наносятся в отмеченные стрелками моменты. После каждого тетануса отмечается относительное увеличение синаптического ответа (красные точки). В контрольной серии (без тетанусов) изменений синаптического ответа не наблюдается (синие точки).

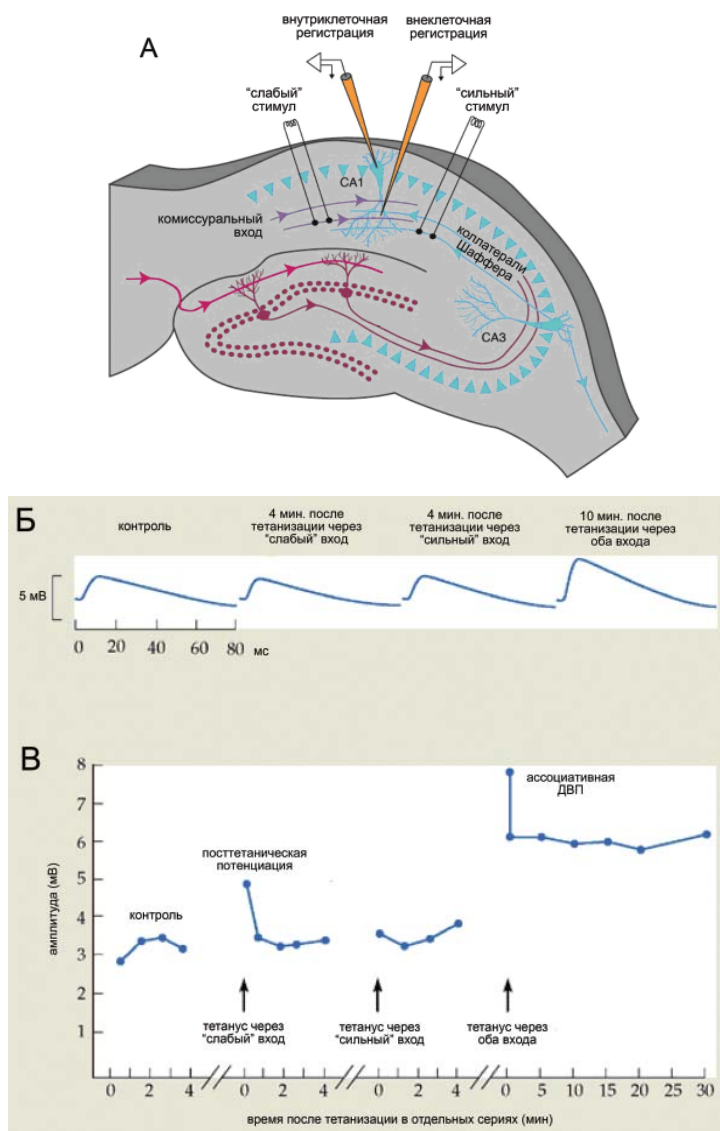


Рис. 8.6. Ассоциативная ДВП в срезах гиппокампа. (А) Схема эксперимента; (Б) усредненные ответы; (В) суммированные результаты. Объяснения в тексте.

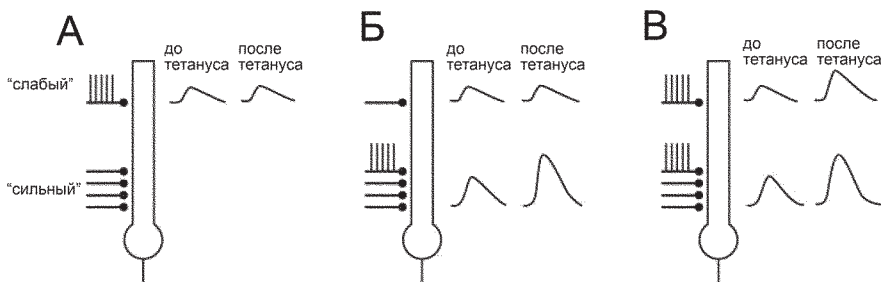


Рис. 8.7. Модель классического условного рефлекса (ДВП) на нейронах гиппокампа. Пирамидные нейроны поля CA1 активируются через «слабый» и «сильный» входы. «Слабый» и «сильный» входы в модели условного рефлекса соответствуют условному и безусловному стимулам. А. Тетаническая стимуляция только через «слабый» вход не вызывает усиления эффективности «слабого» синапса (ДВП) через этот путь. Б. Тетаническая стимуляция только через «сильный» вход вызывает усиление эффективности «слабого» синапса (ДВП) через этот путь. В. Тетаническая стимуляция через оба входа одновременно вызывает усиление эффективности «слабого» синапса (ДВП) через «слабый» путь.

8.3.3. Механизмы индукции ДВП

Возникновение ДВП связывают с дополнительным увеличением концентрации внутриклеточного Ca^{2+} в постсинаптическом нейроне, вызванным совместной стимуляцией нейронов поля CA1 через «сильный» и «слабый» афферентные входы. Механизмом увеличения концентрации внутриклеточного Ca^{2+} является активация глутаматных NMDA-рецепторов. NMDA-рецепторы характеризуются более сложными свойствами по сравнению с другими глутаматными рецепторами (каиновыми и AMPA), поскольку их проводимость зависит не только от медиатора, но и от уровня мембранного потенциала.

В условиях умеренной стимуляции глутаматэргического пресинаптического нейрона (стимуляция только через один вход в модели на срезах гиппокампа) в постсинаптическом нейроне генерируются непродолжительные ВПСП, вызванные Na^+/K^+ -проводимостью только через активированные глутаматом AMPA и каиновые рецепторы. Если деполаризация незначительная, NMDA-рецепторы не активируются из-за Mg^{2+} -блока, и регистрируется непродолжительный ВПСП (рис. 8.8, Б, контроль, В). При интенсивной стимуляции (стимуляция через два пути в модели на срезах гиппокампа, рис. 8.6) деполаризация достигает уровня

-30 мВ, при котором Mg^{2+} -блок снимается и канал пропускает смешанный $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{Ca}^{2+}$ -ток, вызывающий более продолжительный ВПСР (рис. 8.8, Б, удаление Mg^{2+} , Г). NMDA-рецептор остается активированным в течение длительного времени, обеспечивая продолжительную деполяризацию. Сами NMDA-рецепторы обладают относительно высокой Ca^{2+} -проводимостью и при активации повышают концентрацию Ca^{2+} в нейроне. Кроме того, значительная деполяризация, обеспечиваемая NMDA-рецепторами, активирует потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы в мембране нейрона, в результате чего в нейроне еще более повышается концентрация Ca^{2+} (рис. 8.8, Г). Специфический блокатор NMDA-рецепторов APV устраняет продолжительную активацию (рис. 8.8, Б). Участие NMDA-рецепторов в механизме ДВП подтверждено экспериментами, в которых антагонист NMDA-рецепторов APV блокирует запуск ДВП.

Ca^{2+} -механизм индукции ДВП подтверждается также исследованиями, в которых показано устранение ДВП при внутриклеточном введении буферов, блокирующих увеличение градиента Ca^{2+} . Кроме того, поток Ca^{2+} из внутриклеточных депо также может вызывать эффект ДВП. Внутриклеточный Ca^{2+} в повышенной концентрации может активировать целый ряд внутриклеточных каскадов. Наиболее существенными для ДВП является активация СаМКП и цАМФ-зависимой протеинкиназы. Так, внутриклеточная инъекция блокаторов СаМКП и цАМФ-зависимой протеинкиназы блокирует индукцию ДВП.

8.3.4. Молекулярные механизмы ДВП

Первоначально считали, что проявление ДВП обусловлено пресинаптическим механизмом, то есть увеличением выделения глутамата из пресинаптических терминалей, как это происходит при кратковременных пластических изменениях — при фасилитации, усилении и посттанической потенциации синаптической передачи. В ряде экспериментов было показано увеличение среднего квантового содержания глутамата при активации терминали после тетанизации, хотя в других исследованиях показано, что при этом происходит не увеличение числа квантов, а увеличение квантового ответа, вызванного увеличением амплитуды ВПСР (постсинаптический механизм). В дальнейшем был сделан ряд открытий, подтверждающих постсинаптический механизм ДВП.

Регуляция количества синаптических рецепторов.

В настоящее время существуют доказательства того, что *при индукции ДВП число AMPA-рецепторов в постсинаптических мем-*

бранах увеличивается. С использованием флуоресцентных красителей было показано встраивание новых меченых рецепторов в мембраны дендритных шипиков. Высказываются предположения о том, что большое число шипиков являются «молчащими» и при тетанизации в их мембрану встраиваются новые AMPA-рецепторы, которые приводят к увеличению постсинаптических ответов.

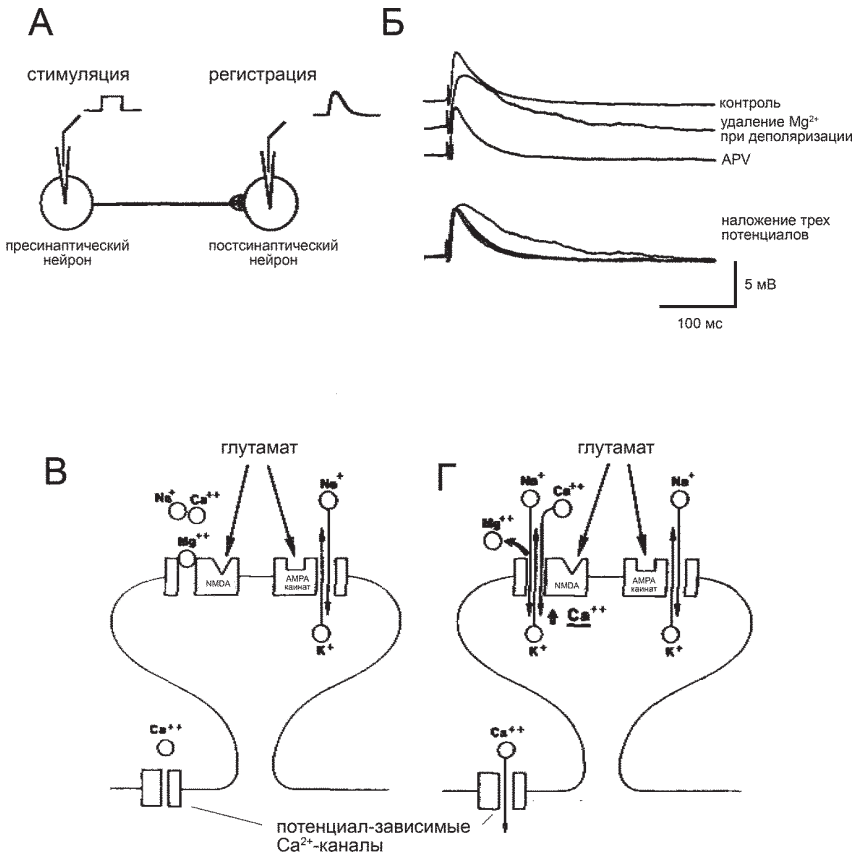


Рис. 8.8. Особенности активации NMDA-рецепторов. (А) Схема регистрации. (Б) ВПСП нейрона при активации глутаматэргического входа в различных условиях. (В) Ионная проводимость при слабой активации возбуждительно-го входа. (Г) Ионная проводимость при сильной активации возбуждительно-го входа. Объяснения в тексте.

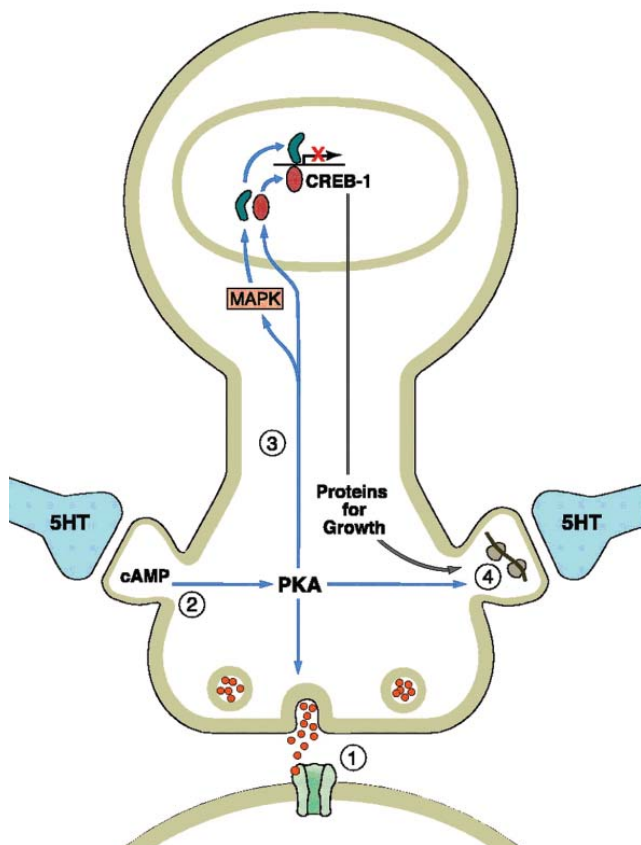


Рис. 8.9. Диалог между генами и синапсами (Кэндел, 2000).

1. Медиатор открывает лиганд-зависимые каналы, что приводит к активации постсинапса в течение нескольких миллисекунд.

2. Активация медиатором трансмембранных рецепторов и включение киназы как вторичного посредника приводит к синаптической активации постсинапса на протяжении нескольких минут.

3. Повторная активация нейротрансмиттером трансмембранных рецепторов приводит к перемещению киназы к ядру клетки и к запуску механизмов генетической транскрипции, что, в конечном счете, приводит к синтезу новых белков, в том числе новых рецепторов медиатора, что обеспечивает долговременное повышение эффективности синаптической передачи.

4. Активация местного синтеза белка, обеспечивает повышение эффективности синаптической передачи в конкретном синапсе, принявшем участие в проведении сигнала.

Синтез новых рецепторов.

Методами иммуногистохимии показано, что синапсы, образованные коллатеральными Шаффера и комиссуральными волокнами на нейронах CA1, содержат NMDA рецепторы, и только часть их содержит AMPA-рецепторы. ДВП приводит к встраиванию в мембраны вновь синтезированных AMPA-рецепторов.

Подтверждением тому являются данные, что ДВП уменьшается при инъекции в постсинаптическую клетку агентов, препятствующих слиянию мембран. Встраивание новых рецепторов в мембрану происходит в результате слияния мембранных транспортных систем (везикул с новыми рецепторами) с клеточной мембраной. Это приводит к увеличению числа синапсов и, как было показано, к увеличению плотности шипиков (Рис. 8.9).

Роль Ca^{2+} . Высокая деполяризация после тетанизации в постсинаптических нейронах приводит к увеличению внутриклеточной концентрации Ca^{2+} . Ca^{2+} связывается с кальмодулином, и комплекс Ca^{2+} /кальмодулин активирует СаМКП, которая автофосфорилируется и сохраняет активность в течение долгого времени, даже после восстановления концентрации Ca^{2+} на начальном уровне. СаМКП оказывает эффекты на синаптическую передачу: 1) фосфорилирует AMPA-рецепторы в мембране, увеличивая их чувствительность и проводимость для ионов, способствуя таким образом усилению ответа рецептора; 2) облегчает мобилизацию (рециклирование) пула резервных AMPA-рецепторов из цитоплазмы в плазматическую мембрану, что приводит к увеличению доступных для активации глутаматом рецепторов.

Относительно кратковременные изменения синаптической пластичности (до 3 час.) происходят за счет активации Ca^{2+} -зависимых киназ и протеаз, которые обеспечивают фосфорилирование мембранных канальных белков и белков цитоскелета, ответственных за рециклизацию AMPA-рецепторов из цитоплазматического пула. Длительные эффекты (более 3 час.) происходят за счет активация белкового синтеза. Ca^{2+} активирует Ca^{2+} -зависимую аденилатциклазу, затем активированная цАМФ протеинкиназа А фосфорилирует регуляторный элемент (CREB), который, проникая в клеточное ядро, запускает синтез новых глутаматных рецепторов.

8.4. Пресинаптическая и постсинаптическая депрессия

Пресинаптическая и постсинаптическая депрессия, так же, как и потенцияция, связана с входом Ca^{2+} в клетку. Предполагается, что высокая концентрация Ca^{2+} приводит к ДВП, а умеренная — к ДВД. Такое различие в эффектах Ca^{2+} достигается за счет активации разных Ca^{2+} -зависимых каскадов как следствие фосфорилирования и дефосфорилирования функционально разнообразных внутриклеточных белков. При долговременной депрессии активируются фосфатазы и кальцинейрин, противодействующие эффекту протеинкиназ. В постсинаптическом нейроне это приводит к уменьшению числа глутаматных AMPA-рецепторов в мембране из-за их эндоцитоза (интернализации) — захват из мембраны в цитоплазму.

Выводы

- Синаптическая пластичность является базовым механизмом памяти и обучения. Типы синаптической пластичности различаются по длительности изменений (кратковременная и долговременная пластичность), по знаку изменений (фасилитация, сенситизация, потенцияция и депрессия) и по участию «третьего входа» (гомо- и полисинаптическая и ассоциативная).
- Механизмом кратковременной пресинаптической пластичности является увеличение количества выделяющегося медиатора из сенсорного нейрона в синапсе на командном нейроне.
- Синаптические механизмы активации генома через систему вторичных посредников рассматриваются как основной механизм выбора между кратковременными и долговременными формами пластичности. Долговременная пресинаптическая пластичность заключается в росте активных зон пресинаптической мембраны и развитии новых синаптических контактов.
- В результате высокочастотной стимуляции синапсы в некоторых участках нервной системы увеличивают свою эффективность (посттетаническая потенцияция), выражающуюся в увеличении амплитуды синаптических ответов по сравнению с ответами до высокочастотной стимуляции.
- Предполагаемым механизмом индукции посттетанической потенцияции является увеличение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} в постсинаптическом нейроне, вызванное активацией глутаматных NMDA-

рецепторов. Эти рецепторы поддерживают продолжительную деполяризацию, обеспечивая продолжительные Ca^{2+} -токи, способствующие усилению синаптического ответа.

- Роль Ca^{2+} в поддержании потенциации заключается в том, что в комплексе с кальмодулином он активирует Ca^{2+} /кальмодулин-зависимую протеинкиназу II. Эта киназа (1) фосфорилирует АМРА-рецепторы в мембране, увеличивая их чувствительность и проводимость для ионов, а также (2) облегчает мобилизацию пула резервных АМРА-рецепторов из цитоплазмы в плазматическую мембрану.

- Другой предполагаемый механизм заключается в том, что Ca^{2+} запускает механизм внутриклеточной сигнализации, приводящий к фосфорилированию регуляторного элемента CREB, который, проникая в клеточное ядро, запускает синтез новых глутаматных рецепторов.

- При всем многообразии конкретных видов и типов синапсов общие принципы их функционирования сходны на всех уровнях эволюционного развития, от беспозвоночных до высших позвоночных животных. Сходство механизмов синаптической передачи нервных сигналов и ее пластичности отмечается как на клеточном, так и на молекулярном уровнях.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Николлс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. М.: Изд. УРСС, 2003. 672 с.

2. Соколов Е. Н. Восприятие и условный рефлекс: новый взгляд. М.: УМК «Психология», 2003. 287 с.

Дополнительная

1. Анохин К. В. Молекулярные сценарии консолидации долговременной памяти. Журн. высш. нервн. деят., 1997. Т. 47, №2, с. 261-286 (Хрестоматия по физиологии ВНД, УМК «Психология», М., 2000. С. 217-230).

2. Балабан П. М., Захаров И. С. Обучение и развитие: общая основа двух явлений. М.: Наука, 1992. 152 с.

3. Греченко Т.Н. Нейрофизиологические механизмы памяти. М.: Наука, 1979. 165 с.

4. Кэндел Э. Клеточные основы поведения. М.: Мир, 1980. 598 с.

5. Kandel E. R. The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2000. (Kandel__Nobel lecture__2000.ppt).

6. Роуз С. Устройство памяти: от молекул к сознанию. М.: Мир, 1995. 380 с.

7. Соколов Е. Н. Нейронные механизмы памяти и научения. М.: Наука, 1981. 181 с.

8. Экклс Дж. Физиология синапсов. М.: Мир, 1968.
9. Kandel E. R., Schwartz J. H., Jessell Th. M. Essentials of neural science and behavior Appleton & Lange, Stamford, 1995.
10. The synaptic organization of the brain. Ed. by M. Shepperd, 4th ed., Oxford University Press, NY, Oxford, 1998.
11. Zigmond M. J., Bloom F. E., Landis S. C., Roberts J. LSquire., L. R. Fundamental Neuroscience. Academic Press, San Diego, London, 1999.

Глава 9. НЕЙРОГЕНЕТИЧЕСКИЙ МЕХАНИЗМ ФОРМИРОВАНИЯ СЛЕДА ДОЛГОВРЕМЕННОЙ ПАМЯТИ

Нейроны относятся к числу самых пластичных клеток организма. Можно сказать, что процессы развития в мозге никогда не прекращаются. Однако, в отличие от эмбрионального развития, долговременные клеточные перестройки во взрослом мозге находятся под контролем системных когнитивных процессов. В настоящей главе рассматриваются некоторые из известных нейрогенетических механизмов, обеспечивающих долговременное хранение памяти, а также пути их регуляции во время обучения.

9.1. Память у человека способна храниться в течение многих лет

Личный опыт каждого из нас говорит, что индивидуальные воспоминания и навыки способны поддерживаться на протяжении очень длительно времени, иногда всю жизнь. Для героя М. Пруста вновь испытанный вкус бисквитного пирожного повлек за собой богатейшую череду юношеских воспоминаний, развернувшихся в многотомную эпопею «В поисках утраченного времени». Нередко воспоминания практически не используются на протяжении многих лет и, тем не менее, при определенных условиях извлекаются из памяти. В клинической литературе описан случай, когда человек после потери сознания, связанной с ушибом мозга, заговорил на своем родном валлийском наречии, на котором он не говорил в течение 30 лет и, казалось бы, совершенно забыл его.

Однако для извлечения давней памяти не обязательно нужны необычные условия. Исследования здоровых людей, которые в школе обучались испанскому языку, но никогда потом им не пользовались, показали, что около 50% этого знания продолжало быть доступным и после 50-летнего перерыва. В некоторых случаях такая долговременная память может сохранять потрясающую точность. Нейропсихолог А. Р. Лурия, исследовавший память мнемониста Ш., описывает, как тот с точностью воспроизводил длинные ряды из 50-70 чисел или несвязанных слов спустя 15-16 лет после того, как он их единожды видел.

Но длительная и надежная память не является способностью лишь неординарных людей. При исследованиях зрительной памяти у обыч-

ных испытуемых было установлено, что они без труда узнавали около 90% фотографий своих одноклассников, с которыми они ни разу не встречались 35 лет после окончания школы. Каким же образом наша нервная система способна поддерживать память на протяжении столь длительного времени?

9.2. Поиски механизмов долговременной памяти направляются идеей энграммы — следа памяти в нервной системе

Более трех с половиной веков назад в «Страстях души» Р. Декарт предпринял первую попытку объяснить, как память образуется, хранится и извлекается мозгом: «Когда в душе возникает желание что-то вспомнить, оно заставляет [эпифизную] железу, попеременно наклоняющуюся в разные стороны, направлять «животные духи» в различные части мозга до тех пор, пока они не встретят следов, оставленных тем предметом, который душа хочет вспомнить. Эти следы — не что иное, как приобретенное свойство пор мозга, через которые раньше проходили «духи», вызванные этим предметом, открываться с большей готовностью «духам», повторно приходящим к ним. Таким образом, «духи», встречая эти поры, входят в них легче, чем в другие, и вызывают особое движение в железе, передающее душе этот предмет и указывающее ей на то, что он и есть тот самый, который она хотела вспомнить».

Декартовская идея упражнения «пор» с помощью «животных духов», на двести лет предварившая открытие нервного возбуждения, нейронов и синаптических контактов, стала путеводной нитью для поисков связи памяти и мозга. Через полтора века Ж. Б. Ламарк повторял ее в «Философии зоологии» уже следующим образом: «При всяком действии, вызванном нервным флюидом, происходит перемещение этого флюида. Когда это действие многократно повторяется, то несомненно, что флюид, обуславливающий его, прокладывает себе путь, прохождение которого делается с течением времени для него тем более легким, чем чаще он им пользуется и чем сильнее выражена склонность флюида следовать именно по этому привычному пути, а не по какому-либо иному, по которому он не столь часто движется».

В 1893 г., уже после создания клеточной теории и начала микроскопических исследований строения нервной системы, итальянский нейрогистолог Э.Танци (E.Tanzi, 1893) писал:

«Вероятно, каждое отображение чего-либо в мозгу сразу же вызывает функциональную гипертрофию протоплазматических выростов и аксонов; молекулярные вибрации усиливаются и распространяются, изменяя форму дендритов; таким образом, при благоприятных обстоятельствах возникают, а потом и сохраняются новые выросты и ответвления... каждый последующий эпизод одного и того же акта сознания в форме воспоминания, фантазии или единичного повторения усиливает мнемонический потенциал, поскольку ведет к формированию новых впечатлений, которые заменяют или дополняют существовавшие ранее... При этом на смену первичным кратковременным связям между нейронами в конце концов приходят стабильные функциональные объединения клеток... Этот прогрессирующий процесс функциональной гипертрофии приводит к более или менее стойкому увеличению разветвленных отростков, соединяющих нервные элементы».

Это предположение вместе с догадкой великого испанского нейроанатома С. Рамона-и-Кахала (Ramon y Cajal, 1893) о том, что формирование опыта вовлекает такие же клеточные механизмы, как и развитие нервной системы, составили основу грандиозной редукционистской программы исследований памяти в 20 веке. Ее руководящей идеей стал поиск в нервной системе следа памяти, или «энграммы». Понятие «энграмма» ввел немецкий биолог Р. Семон (R. Semon), опубликовавший в 1904 г. монографию «*Die Mneme*», в которой он пытался соединить биологический анализ наследственности с психологическим и физиологическим анализом памяти. Эти идеи не были оценены современниками, однако сам термин «энграмма» получил широкую популярность, в значительной степени благодаря статье знаменитого американского нейропсихолога К. Лешли (K. Lashley, 1950). В работе, называвшейся «В поисках энграммы» и подводившей итог более чем 30 годам труда, Лешли с горечью признавался: «Обозревая доказательства локализации следа памяти, я иногда ощущаю, что обучение просто невозможно. Слишком сложно представить себе механизм, который отвечал бы требованиям к этому процессу». Однако исследования механизмов памяти во второй половине 20 века позволили путем цепи детерминистических шагов перекинуть мост от «свойства человеческой души», как определяли память психологические руководства начала века, к тончайшим молекулярным процессам в нервной системе. Ниже мы рассмотрим основные звенья этой связи.

9.3. Память человека имеет две фазы — кратковременную и долговременную

Первые исследования, критические для понимания того, как образуется долговременная память, провел немецкий психолог Г. Эббингауз (Ebbinghaus, 1885). Он изобрел набор простых методов для измерения памяти и доказал, что сложнейшая проблема формирования памяти может стать объектом экспериментального исследования.

Эббингауз находился под сильным влиянием успехов в исследованиях процессов восприятия, достигнутых Вебером, Фехнером и Вундтом с помощью методов психофизики. Заимствовав их экспериментальный подход к изучению высших психических процессов, он задался вопросом, как новая информация сохраняется мозгом? Чтобы быть уверенным, что информация действительно новая и никогда не использовалась раньше, он изобрел прием, использующий в тестах бессмысленные слоги — WUX, CAZ, JEK, ZUP, RIF и т.д. Эббингауз сочинил около 2300 таких слогов, написал их на карточках, перемешивал их и, вытягивая случайным образом от 7 до 36 карточек из колоды, последовательно запоминал их, читая их вслух со скоростью 50 слов в минуту.

Чтобы определить, как долго новая информация способна сохраняться в памяти, Эббингауз изобрел метод, названный им методом «сохранений». Этот метод позволял оценить объем сохраняемого в памяти материала, определяя, насколько сложно было повторно заучить уже прочтенный список. Он обнаружил, что выучивание списка во второй раз требовало гораздо меньше повторений, если информация хорошо сохранялась в памяти, чем если она забывалась.

С помощью этих простых опытов Эббингауз сделал важное открытие. Используя разные списки слогов для разных интервалов тестирования, он проверил свою память на разных сроках после обучения. При этом он обнаружил, что кривая забывания имеет как минимум две составляющих. На первой фазе в памяти сохраняется большое количество информации. Однако очень быстро, в течение первых 20–60 минут после обучения, объем сохраняемой информации резко падает. Затем следует вторая фаза хранения, на которой оставшиеся 20–30% информации удерживаются долгое время, в течение дней или недель.

Таким образом, Эббингауз обнаружил существование кратковременной и долговременной фаз хранения памяти. Сходное разделение памяти на «первичную» и «вторичную» формы предложил несколько позже и американский психолог У. Джеймс (James, 1890).

Вторым важным результатом Эббингауза было установление короткого «временного окна», на протяжении часа вслед за обучением, во время которого одна фаза памяти переходит в другую. Это дало возможность приступить к изучению процессов, происходящих в этот критический период.

9.4. Долговременная память образуется за счет активного процесса — консолидации

Экспериментальными подходами Эббингауза вскоре воспользовались два немецких психолога — Г. Мюллер и А. Пилзекер. В конце 1890-х годов они выполнили серию исследований, в которых изучали сохранение вербальной информации в памяти испытуемых. Однако по сравнению с методами Эббингауза они ввели дополнительный прием. Через секунды после первого списка бессмысленных слогов испытуемым предъявлялся второй список. Тестирование памяти через 24 часа показало, что в этом случае память о первом списке ухудшалась более чем вдвое. Авторы назвали этот феномен «ретроактивным торможением» и установили, что оно не проявляется, если второй список предъявляется с отставленным интервалом в 6 минут. Из этого Мюллер и Пилзекер заключили, что в течение короткого времени, около 10 минут после приобретения, память переходит из лабильной, легко нарушаемой в постоянную и устойчивую к повреждающим воздействиям. Для обозначения этого активного физиологического процесса в нервной системе они предложили термин «консолидация» памяти (Mueller and Pilzecker, 1900). Хотя эта гипотеза была первоначально выдвинута для объяснения вербального обучения у человека, она оказала огромное влияние на весь последующий ход исследований нервных и молекулярных механизмов долговременной памяти.

Первой моделью нервных механизмов запоминания, объединяющей две фазы памяти и процесс ее консолидации, стала гипотеза канадского нейропсихолога Д. Хебба (Hebb, 1949). Хебб предположил, что долговременная память образуется из поддерживающих кратковременную память нейрональных ансамблей за счет продолжающейся в них после обучения ревербирирующей активности. В гипотезе Хебба эта активность и составляла нервную основу процессов консолидации. Однако экспериментально проверить эту и другие гипотезы относительно тонких механизмов сохранения памяти в мозге было невозможно до тех пор, пока феномен консолидации был известен лишь для человеческой памяти.

9.5. Консолидация — общебиологическое свойство памяти человека и животных

В конце 1940-х годов американский психолог К. Дункан (Duncan, 1949) установил, что судороги, вызываемые у крыс в пределах 15 минут после обучения электроконвульсивным шоком, способны нарушить их долговременную память. С другой стороны, если шок наносился через 1 час и позже после обучения, он не оказывал практически никакого эффекта на воспроизведение. Эти результаты хорошо согласовались с временными показателями консолидации памяти у человека. Не менее важным было и то, что чувствительность долговременной памяти к электроконвульсивному шоку оказалась эволюционно консервативной. Она проявлялась у самых разных животных, от беспозвоночных до млекопитающих. Это позволило приступить к биологическим исследованиям механизмов консолидации памяти в мозге, используя различные модели обучения у животных.

9.6. Для консолидации памяти необходима экспрессия генов в нервной системе

В 1959 г. шведский биохимик Х. Хиден (Hyden, 1959) сообщил, что обучение животных новому навыку вызывает увеличение содержания РНК в их мозге. Если крысы обучались передвигаться за пищей по тонкой натянутой проволоке, то количество РНК увеличивалось в нейронах вестибулярного аппарата. Когда крысы-левши обучались пользоваться правой лапой, чтобы доставать корм из трубки, количество РНК увеличивалось в моторной области коры головного мозга. Такое же увеличение синтеза РНК наблюдалось и у золотых рыбок, которых заставляли освоить новый стиль плавания, прикрепляя к их нижней части туловища кусочек пенопласта. Оценка сроков синтеза РНК с помощью измерения включения радиоактивно меченного предшественника через разные интервалы времени показало, что образование новой РНК происходит в пределах первого часа после начала обучения. Этот период хорошо совпадал с «критическим окном» консолидации памяти. Вскоре Хиден установил, что приблизительно в это же время после обучения в мозге животных нарастает и синтез новых белков. Стало понятно, что консолидация памяти каким-то образом совпадает с активацией экспрессии генов в мозге животных.

В начале 1960-х годов несколькими группами американских исследователей было обнаружено, что антибиотики, нарушающие син-

тез РНК и белка, вызывают глубокие нарушения памяти у животных. При введении перед обучением эти вещества препятствовали воспроизведению долговременной памяти, но не влияли на кратковременную память. Так же, как и в случае с электроконвульсивным шоком, ингибиторы синтеза белка были способны вызывать амнезию только при их действии в пределах короткого «временного окна» сразу вслед за обучением. Как и при действии электроконвульсивного шока, это «временное окно» и амнестические эффекты антибиотиков оказались сходными у разных видов животных, включая моллюсков, насекомых, рыб, птиц и млекопитающих. Ингибиторы нарушали долговременную память при различных видах обучения, начиная от привыкания и сенситизации до сложных форм классического и оперантного обусловливания.

Из этих исследований были сделано важное заключение, что консолидация долговременной памяти требует синтеза РНК и белка, то есть основана на механизмах активации экспрессии генов в нервной системе.

Таким образом, понятие долговременной памяти постепенно трансформировалось из достаточно условного обозначения относительной продолжительности явления в концепцию нейробиологического механизма. Критическим звеном этой концепции стал процесс активации экспрессии генов в нервных клетках при обучении. Однако то, какие именно гены активируются при обучении и каковы их функции в нервных клетках, долгое время оставалось неизвестным.

9.7. При обучении в мозге активируются «непосредственные ранние гены»

Первыми генами, активация которых была обнаружена в мозге при обучении, оказались так называемые «непосредственные ранние гены». Эти гены были впервые обнаружены при изучении процессов геномного ответа клеток на действие факторов роста, запускающих процессы клеточного цикла. Индукция их транскрипции происходила, несмотря на подведение ингибиторов синтеза белка, то есть строилась на клеточных механизмах, заранее готовых для восприятия экстраклеточных стимулов. Первые из идентифицированных продуктов генов данного семейства оказались ядерными белками, связывающимися с ДНК и регулирующими транскрипцию других генов. По этим свойствам данные гены значительно напоминали группу «непосредственных ранних генов» бактериофагов и эукариотических ДНК-вирусов, поэтому, по

аналогии с вирусными генами, эта группа быстро активирующихся генов получила название «клеточных непосредственных ранних генов». Это же семейство часто обозначается как «гены первичного ответа», «гены раннего ответа» или просто «ранние» гены.

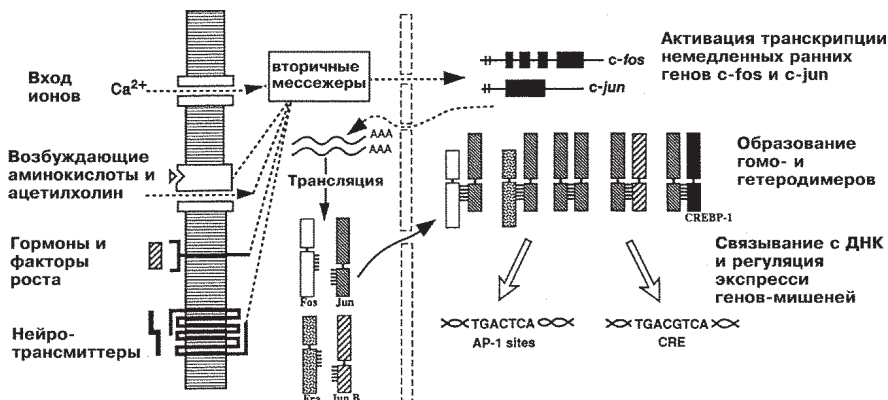


Рис. 9.1. Двухфазная регуляция транскрипции генов в клетке с помощью продуктов «ранних генов». Внеклеточные стимулы (гормоны, факторы роста, нейромедиаторы) могут вызвать активацию транскрипции «ранних генов», включая гены *c-fos* и *c-jun*. Воздействие экстраклеточных сигналов на промоторы этих генов осуществляется посредством вторичных мессенджеров. Fos, Jun и ряд других белков этого семейства синтезируются в цитоплазме и быстро транспортируются в ядро, где могут образовывать гетеро- и гомодимерные комплексы. Эти комплексы обладают специфической ДНК-связывающей активностью и способны изменять транскрипцию других генов-мишеней («поздних» генов) (Из Curgen & Morgan, 1991).

Одним из первых в данной группе был клонирован ген *c-fos*. Его структура и свойства хорошо изучены, и он может служить прототипом генов данного семейства. Первоначально было установлено, что в ходе эмбрионального развития *c-fos* играет важную роль в регуляции процессов клеточного роста и пролиферации. Оказалось также, что один белок, кодируемый геном *c-fos*, сам по себе не может инициировать или подавить транскрипцию генов-мишеней, необходимых для инициации клеточного деления или дифференцировки. Он должен образовывать димеры с молекулами других транскрипционных факторов, объединяемых в семейство, получившее название AP-1. Помимо *c-fos*, в это семейство входят *fos-B*, *c-jun*, *jun-B*, *jun-D*, *fra-1*, *fra-2* и ряд пока еще не идентифицированных генов. Кроме того, были клонированы и

другие ранние гены, такие, как *ets-1*, *ets-2*, *Myc*, *Myb*, *Krox-20*, *zif/286*, *NGFI-B*, *mKr2*, *Arg 3.1*. Продукты многих из них, хотя и не всех, также являются регуляторными белками, контролирующими транскрипцию. Гены, экспрессия которых находится под контролем индуцируемых транскрипционных факторов, были названы, по аналогии с вирусными системами, «поздними» генами, «генами позднего ответа» или «эффекторными» генами, а весь двухфазный механизм регуляции транскрипции с участием этих двух классов генов является одним из наиболее универсальных способов обеспечения процессов клеточного деления и роста в развитии (рис. 9.1).

В конце 1980-х годов две группы исследователей, в России, а затем в Польше и Германии, обнаружили, что в мозге обучающихся крыс активируется ген *c-fos*. Это открытие повлекло за собой детальное изучение участия этого и других «непосредственных ранних генов» в разных формах обучения у разных организмов. Некоторые из результатов этих исследований суммированы в таблице 9.1.

Прямое подтверждение критической роли экспрессии гена *c-fos* в формировании памяти дали эксперименты с избирательной блокадой его активности в мозге с помощью антисмысловых олигонуклеотидов. Эти опыты показали, что подавление трансляции мРНК *c-fos* в структурах мозга нарушает долговременную, но не кратковременную память в различных моделях обучения и у разных видов животных. К таким же нарушениям приводит и избирательная генетическая инактивация гена *c-fos* в мозге животных. Такие нокаутные животные способны нормально обучаться пространственным задачам в водном лабиринте Морриса, однако долговременная память у них нарушена. У них также нарушена долговременная потенция (ДП) в гиппокампе.

Сходные данные были получены и для других членов семейства непосредственных ранних генов, кодирующих транскрипционные факторы. В частности, похожим образом при обучении регулируется экспрессия гена другого транскрипционного фактора, известного как *zif268*, *Egr-1*, *NGFI-A* или *Krox-24*. Этот ген кодирует транскрипционный фактор из группы белков с «цинковыми пальцами». Активация этого гена также происходит во многих клетках нервной системы позвоночных при разных формах обучения. А его генетическая инактивация у мышей приводит к нарушениям долговременной пространственной памяти, вырабатываемой в водном лабиринте, и угасанию поздней, длительной фазы ДП.

**Особенности экспрессии непосредственных ранних генов (НРГ),
в мозге при обучении**

	Свойства экспрессии непосредственных ранних генов в мозге
1.	В мозге взрослых животных, находящихся в «спокойных» условиях, транскрипция большинства НРГ находится на низком, часто не детектируемом уровне.
2.	В условиях, ведущих к процессам обучения, при потере результативности ранее выработанных действий животного, при новых и неожиданных воздействиях среды или исчезновении привычных и ожидаемых событий, происходит быстрая активация транскрипции НРГ в нервной системе.
3.	Активация транскрипции НРГ начинается сразу после попадания животных в ситуацию обучения.
4.	Экспрессия НРГ при обучении происходит в нервных, но не глиальных клетках.
5.	Паттерны распределения клеток, экспрессирующих ранние гены, имеют генерализованный характер и охватывают обширные районы мозга. Конкретная топография экспрессии определяется характером воздействия и задачами обучения.
6.	Экспрессия НРГ регулируется обучением в разные сроки постнатального развития, от рождения до взрослого возраста.
7.	Активация НРГ затухает по мере потери новизны воздействия или после завершения выработки и автоматизации нового навыка. Обыденная поведенческая активность животных, выполнение ими приобретенных автоматизированных навыков, действие знакомых им сигналов и событий или нахождение животных в привычной им среде, не требующей обучения, не сопровождаются экспрессией НРГ в нервной системе.

Однако в число «непосредственных ранних генов», активирующихся про обучении, входят не только гены, кодирующие транскрипционные факторы или другие регуляторные белки. Часть из них кодирует эффекторные белки, способные сразу изменять свойства обучающегося нейрона. В эту категорию, в частности, входят: 1) факторы, регули-

рующие рост клеток (*BDNF, Narp*); 2) белки внутриклеточной сигнализации (*Rheb, RGS-2, Homer 1a*); 3) белки синаптических модификаций или других структурных изменений нейрона (*Arc, TPA*) или 4) регуляторов метаболизма (*COX-2*).

Общее же число генов, индуцируемых в нервной системе при обучении, по некоторым оценкам может составлять до 500, и многие из них идентифицированы в тех или иных моделях нейрональной пластичности.

9.8. Вслед за активацией «ранних» генов при обучении происходит экспрессия «поздних» генов

Как уже упоминалось, многие «ранние» гены кодируют транскрипционные факторы, регулирующие активность наборов эффекторных «поздних» генов. Поэтому если долговременные изменения в мозге при формировании памяти действительно инициируются продуктами ранних генов, то геномный ответ нервных клеток на обучение должен быть таким же, как и у других клеток на факторы роста, то есть двухфазным: вначале должна происходить экспрессия ранних генов, а затем активация регулируемых ими генов-мишеней. Еще в 1969 году предположение о подобной двухстадийной активации генома при обучении высказал Э. Глассман (Glassman, 1969): «Можно предположить следующую последовательность химических событий, которые ведут к консолидации долговременной памяти: белок-1 → РНК → белок-2... Образование белка-1 основывается на сообщении о том, что у золотых рыбок пуромидин одновременно предотвращает изменения синтеза РНК и нарушает память. Если окажется, что правильны другие объяснения этого феномена, то данный белок можно будет с легкостью исключить из схемы. Пока же соблазнительно предположить, что этот белок является активатором специфических генов, которые кодируют РНК, образующуюся на следующем этапе».

И действительно, при стимуляции нервной системы транскрипционные факторы, кодируемые «ранними» генами, инициируют «вторую волну» синтеза белка, которая начинается через несколько часов после первоначального воздействия. Так, при исследовании динамики синтеза РНК и белка в гиппокампе крыс после обучения активному избеганию было обнаружено, что увеличение включения радиоактивных предшественников возрастает в течение первого часа после сеанса, потом падает и приблизительно 3 часа находится на контрольном уровне, а затем, на 6–10 часу, вновь существенно возрастает. В полном соответствии с этим обстоятельством, введение в мозг ингибитора синтеза

белка анизомицина через 3-5 часов после обучения нарушает консолидацию долговременной памяти. При этом сами гены транскрипционных факторов, таких, как *c-fos* и *c-jun*, во время второй фазы синтеза РНК не экспрессируются.

Какие же эффекторные гены активируются в мозге под воздействием индуцируемых транскрипционных факторов?

Среди «поздних генов» лучше всего исследованы мишени транскрипционных белков *fos/jun*, имеющие участки связывания с AP-1 элементами ДНК. AP-1 элемент присутствует в промоторных областях большого числа генов, многие из которых активируются в ответ на разнообразные экстраклеточные воздействия. В число генов, содержащих AP-1 участок, входят, например, гены препроэнкефалина, S-100, нейрофиламентов, тирозингидроксилазы и N-CAM.

Гены молекул клеточной адгезии N-CAM (neural cell adhesion molecules), относящиеся к семейству генов молекул клеточной адгезии, представляют в этом отношении особый интерес. Молекулы клеточной адгезии, или «морфорегуляторные молекулы», экспрессируясь на поверхности клеточных мембран, регулируют агрегацию и дисагрегацию клеток в процессах развития. Блокада экспрессии или связывания молекул клеточной адгезии ведет к нарушениям морфогенетических паттернов в развитии. Ген N-CAM экспрессируется как в эмбриональном, так и во взрослом мозге. Мыши с направленной мутацией гена N-CAM имеют измененную морфологию мозга, нарушения поведения и обучения.

Особенно интересно, что функционально активные молекулы клеточной адгезии образуются во время второй волны синтеза белка после обучения. Антитела к молекулам клеточной адгезии способны вызвать у животных амнезию только при введении в течение строго фиксированного критического периода после обучения. Этот период охватывает интервал от 6 до 8 часов после обучения у крыс и от 4 до 6 часов у цыплят и совпадает со временем, когда после обучения должны активироваться гены-мишени для продуктов ранних генов. В совокупности с тем, что гены N-CAM несут в своих промоторах AP-1 элементы, связывающиеся с транскрипционными факторами семейства *fos/jun*, это дает основания полагать, что они включаются при обучении в каскад молекулярных событий, индуцируемых «ранними» генами. В результате реактивации во взрослом мозге этих и других, контролирующих развитие морфорегуляторных молекул нервные клетки могут приобретать при формировании нового опыта способность к перестройке своих синаптических контактов и специализации относительно вновь образующихся функциональных систем.

9.9. На молекулярном уровне обучение составляет с развитием единый континуум

Таким образом, при обучении в нервных клетках наблюдается следующая последовательность молекулярно-генетических процессов. Вначале рассогласование текущей ситуации с имеющимся опытом запускают активацию каскада «ранних» регуляторных генов в группах клеток, опосредующих эти процессы. Продукты «ранних» генов индуцируют, в свою очередь, экспрессию «поздних» генов, в том числе генов морфорегуляторных молекул, являющихся ключевыми участниками процессов морфогенеза при эмбриональном развитии. Эти и другие эффекторные гены стабилизируют участие нейронов в новой, сложившейся в результате обучения функциональной системе. При этом основные молекулярно-генетические элементы и этапы молекулярного каскада дифференцировки клетки оказываются чрезвычайно сходными при обучении и развитии (рис. 9.2). В определенном смысле мы можем сказать, что на молекулярном уровне обучение выступает как непрекращающийся процесс развития.

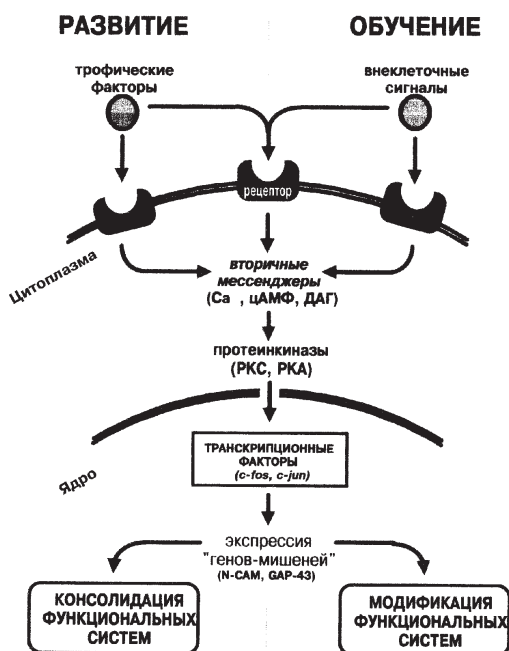


Рис. 9.2. Общность молекулярных механизмов регуляции экспрессии генов при развитии нервной системы и обучении (Анохин, 1996).

Однако механизмы регуляции экспрессии генов при обучении имеют одно чрезвычайно важное отличие от сходных процессов в развитии.

9.10. На системном уровне активность генов в мозге при обучении находится под когнитивным контролем

Выше уже упоминалось, что вопрос о том, вызовет или нет какая-либо поведенческая ситуация экспрессию «ранних» генов в клетках мозга, критическим образом зависит от содержания прошлого индивидуального опыта животного и определяется фактором субъективной новизны данного события (см. табл. 9.1). Это хорошо видно из следующего эксперимента.

Мышей помещали в камеру, где они получали серию неизбежных электрокожных раздражений. Это вызывало у них массивную активацию экспрессии гена *c-fos* в ряде структур головного мозга: коре, гиппокампе и мозжечке. Однако после того как животных регулярно подвергали этому воздействию на протяжении 6 дней, в конце концов та же самая процедура, связанная с аверсивной стимуляцией, переставала вызывать активацию *c-fos* в клетках мозга. Хотя животные продолжали подвергаться электрокожному раздражению, это воздействие утратило свою новизну и перешло в категорию ожидаемых событий в системах их индивидуального опыта. Таким образом, экспрессия *c-fos* в данных условиях вызывается вовсе не внешними стимулами, действующими на мозг, а их несоответствием материалу индивидуальной памяти. Наиболее демонстративно это можно было увидеть на животных специальной группы, которым наносили раздражение на протяжении пяти дней, а на шестой день помещали их в ту же камеру, но электрокожную стимуляцию они в ней не получали. Это отсутствие стимуляции вызывало на первый взгляд парадоксальный эффект: животные данной группы демонстрировали значительную активацию экспрессии гена *c-fos* в мозге, особенно в гиппокампе.

Описывая эту закономерность в терминах теории функциональных систем, можно сказать, что экспрессия «ранних» генов в клетках головного мозга бодрствующего взрослого животного наступает при условии рассогласования обстановочной, пусковой или мотивационной афферентации с акцептором результатов действий в какой-либо из врожденных или приобретенных функциональных систем организма. Другими словами, это означает, что активность «ранних» генов в поведении является производной от системных процессов сличения афферентации и содержания индивидуального опыта на нейронах головного мозга, процессов,

которые определяются фактором новизны, то есть категорией субъективной оценки организмом среды и собственного поведения.

Следовательно, взаимоотношение процессов развития нервной системы и обучения требует описания на двух различных уровнях. На уровне регуляции экспрессии генов обучение действительно составляет с развитием мозга единый континуум. В обоих случаях дифференцировка нервных клеток зависит от активации в них определенных транскрипционных факторов. Некоторые из этих белков кодируются семейством «ранних» генов. Активация этих генов и в развивающемся, и обучающемся мозге осуществляется посредством факторов роста, медиаторов и гормонов. Вслед за экспрессией транскрипционных факторов наступает вторая волна активации «поздних», или эффекторных генов. Белковые продукты этих генов выполняют разнообразные функции в нервных клетках. В частности, молекулы клеточной адгезии и другие синаптические белки изменяют связи нейрона, устанавливая функциональную специализацию клетки в системе межклеточных отношений. Сходство молекулярных механизмов клеточной специализации на границе между завершающими стадиями созревания нервных связей и началом их модификации в поведении настолько велико, что, пользуясь одними лишь критериями молекулярного анализа, часто невозможно определить, относится ли рассматриваемый клеточный процесс к развитию или к обучению.

Однако демаркация между процессами развития и обучения отчетливо выявляется при системном анализе проблемы. Если на уровне молекулярных механизмов регуляции транскрипции обучение действительно выступает как продолжающийся процесс развития, то на системном уровне управление этим клеточным процессом претерпевает фундаментальную трансформацию. Оно переходит из-под контроля только локальных клеточных и молекулярных взаимодействий под контроль более высокого порядка — общемозговых интегративных процессов, которые протекают в функциональных системах, составляющих индивидуальный опыт организма.

9.11. Итоги и перспективы

Исследования молекулярных основ долговременной памяти свидетельствуют в пользу глубокого изохимизма молекулярно-генетических механизмов обучения и механизмов развития нервной системы. Эти данные заставляют полагать, что на молекулярно-генетическом уровне обучение продолжает процессы развития, образуя эпизоды дополни-

тельного морфогенеза во взрослом мозге. Сходство это, особенно на границе между завершающими стадиями созревания нервных связей и началом их модификации в поведении, настолько велико, что, пользуясь одними лишь молекулярными критериями, часто невозможно определить, относится ли рассматриваемый процесс к развитию или к обучению.

Однако демаркация между этими процессами отчетливо выявляется при их сопоставлении в контексте системных механизмов деятельности мозга. Если на уровне молекулярных механизмов регуляции транскрипции обучение действительно выступает как продолжающийся процесс развития, то на системном уровне управление этим клеточным процессом претерпевает после рождения фундаментальную трансформацию. Регуляция индуцируемых клеточной активностью «ранних» и «поздних» генов во взрослой нервной системе включена в механизмы самоорганизации поведенческих функциональных систем. Таким образом, она переходит из-под влияния чисто локальных клеточных и молекулярных взаимодействий под контроль общемозговых интегративных функций. Это превращает морфогенез в мозге при обучении в производное от системных, когнитивных процессов.

Такое заключение серьезным образом влияет на понимание молекулярных механизмов обучения и памяти. Оно означает, что при анализе процессов активации экспрессии генов и синаптической пластичности в клетках нервной системы при обучении необходимо каждый раз отвечать на вопрос, в каких функциональных системах находились эти нейроны? Приурочена ли экспрессия генов при обучении к нейронам старых систем, которые вошли в противоречие с изменившимися обстоятельствами среды, или же она отражает процессы специализации новых нейронов и формирования новых систем, обеспечивающих достижение адаптивных результатов в измененных условиях?

Очевидно, что ответ на эти вопросы требует гораздо большего, чем просто анализ экспрессии генов в структурах головного мозга при тех или иных формах поведения и обучения. Для решения этих проблем необходимы многоуровневые исследования, соединяющие изучение молекулярно-генетических процессов в нервных клетках с идентификацией места этих нейронов в динамической структуре поведения.

Другое следствие изменившегося состояния проблемной ситуации касается фундаментального эволюционного значения того, что в нервной системе морфогенез никогда не прекращается, а лишь переходит под контроль когнитивных процессов, протекающих в созревших фун-

кциональных системах. Две фазы онтогенеза — созревание (первичный системогенез) и адаптивные модификации (вторичный системогенез) функциональных систем — оказываются тесно переплетенными на уровне механизмов регуляции экспрессии генов в нервной системе. Объем и масштабы этого сходства заставляют полагать, что период между завершающими стадиями развития нервной системы и началом индивидуального обучения является зоной обширных филогенетических взаимодействий этих двух доменов. Понять их возможно, только исследуя функциональные процессы, в составе которых данные молекулярные переходы подвергались естественному отбору.

Выводы

- Память у человека способна храниться в течение многих лет. Психологические исследования показывают, что многие воспоминания и навыки сохраняются, даже без активного использования, в течение десятков лет.

- В основу поисков механизмов долговременной памяти была положена идея «энграммы» — сохраняющегося следа памяти в нервной системе.

- Память человека имеет две фазы — кратковременную и долговременную. В психологических экспериментах было установлено, что в течение короткого времени после приобретения память переходит из лабильной, легко нарушаемой в постоянную и устойчивую к повреждающим воздействиям. Для обозначения этого активного физиологического процесса в нервной системе был введен термин «консолидация» памяти.

- Консолидация памяти обнаружена у самых разных животных, от беспозвоночных до млекопитающих, и является общебиологическим свойством формирования долговременной памяти человека и животных.

- После обучения в областях мозга животных, связанных с соответствующим опытом, увеличивается синтез РНК и белков. Это происходит в тот же период, который в ходе психологических экспериментов был определен как критическое временное «окно» для перехода кратковременной памяти в долговременную. Блокада синтеза РНК и белков в мозге во время этого периода нарушает формирование долговременной памяти. Эти данные свидетельствуют о том, что консолидация долговременной памяти требует синтеза РНК и белка, то есть основана на механизмах активации экспрессии генов в нервной системе. Как следствие, понятие долговременной памяти трансформировалось из

условного обозначения относительной продолжительности явления в концепцию нейробиологического механизма.

- Первыми генами, активация которых была обнаружена в мозге при обучении, оказались «непосредственные ранние гены», такие, как *c-fos*, *c-jun*, *zif/286*, *NGFI-B* и другие. Продукты многих из них, хотя и не всех, являются ядерными белками, связывающимися с ДНК и регулирующими транскрипцию других генов. Воздействие экстраклеточных сигналов на промоторы этих генов осуществляется посредством вторичных мессенджеров, а индукция их транскрипции происходит, несмотря на подведение ингибиторов синтеза белка, то есть строится на клеточных механизмах, заранее готовых для восприятия экстраклеточных стимулов.

- В число «непосредственных ранних генов», активирующихся при обучении, входят не только гены, кодирующие транскрипционные факторы. Часть из них кодирует белки, способные сразу изменять свойства обучающегося нейрона. В эту категорию, в частности, входят факторы, регулирующие рост клеток (*BDNF*, *Narp*), белки внутриклеточной сигнализации (*Rheb*, *RGS-2*, *Homer 1a*), белки для синаптических модификаций и других структурных изменений нейрона (*Arc*, *TPA*) или регуляторов метаболизма (*COX-2*).

- При стимуляции нервной системы транскрипционные факторы, кодируемые «ранними» генами, инициируют «вторую волну» активации генов и синтеза белков, которая начинается через несколько часов после первоначального воздействия. При этом сами гены транскрипционных факторов, таких, как *c-fos* и *c-jun*, во время второй фазы синтеза РНК не экспрессируются. Гены, экспрессия которых находится под контролем индуцируемых транскрипционных факторов, были названы «поздними» генами («генами позднего ответа» или «эффекторными» генами). К числу «поздних» относятся гены препроэнкефалина, S-100, нейрофиламентов, тирозингидроксилазы, N-CAM и многие другие. Таким образом, вслед за активацией «ранних» генов через некоторое время после обучения в нейронах происходит экспрессия «поздних» генов.

- Общее число генов, индуцируемых в нервной системе при обучении, по некоторым оценкам может насчитывать до 500 и более генов.

- В мозге взрослых животных, находящихся в «спокойных» условиях, транскрипция большинства ранних генов находится на низком, часто не детектируемом уровне. В условиях, ведущих к процессам обучения, происходит быстрая активация транскрипции этих генов в обу-

чающихся нервных клетках. Эта активация транскрипции начинается сразу после попадания организма в ситуацию обучения.

- Паттерны распределения клеток, экспрессирующих ранние гены при обучении, имеют генерализованный характер и охватывают обширные районы мозга. Экспрессия этих генов регулируется обучением в разные сроки постнатального развития, от рождения до взрослого возраста.

- Активация ранних генов затухает по мере потери новизны воздействия или после завершения выработки и автоматизации нового навыка.

- Двухфазный механизм регуляции транскрипции с участием двух классов («ранних» и «поздних») генов является одним из наиболее универсальных способов обеспечения процессов клеточного роста и дифференцировки в развитии.

- Основные молекулярно-генетические элементы и этапы молекулярного каскада дифференцировки клетки оказываются чрезвычайно сходными при обучении и развитии. Нейроны относятся к числу самых пластичных клеток организма, в которых процессы развития практически никогда не прекращаются. Можно сказать, что на молекулярном уровне обучение выступает как непрекращающийся процесс развития нервной системы.

- Однако механизмы регуляции экспрессии генов в клетках мозга при обучении имеют одно чрезвычайно важное отличие от сходных процессов в развитии: вызовут или нет какие-либо внешние стимулы экспрессию «ранних» генов, критическим образом зависит от прошлого индивидуального опыта животного и определяется фактором субъективной новизны данного события.

- Таким образом, на системном уровне активность генов в мозге при обучении находится под когнитивным контролем, переходя из-под подчинения исключительно локальных клеточных взаимодействий под контроль более высокого порядка — общемозговых интегративных процессов в функциональных системах, составляющих индивидуальный опыт организма. При этом на молекулярно-генетическом уровне обучение продолжает процессы развития, образуя эпизоды дополнительного морфогенеза во взрослом мозге. Таким образом, две фазы онтогенеза — созревание (первичный системогенез) и адаптивные модификации (вторичный системогенез) функциональных систем — оказываются тесно переплетенными на уровне механизмов регуляции экспрессии генов в нервной системе.

• При анализе экспрессии генов и синаптической пластичности в клетках нервной системы при обучении необходимо учитывать, в каких функциональных системах находились эти нейроны. Нерешенным остается вопрос, приурочена ли эта экспрессия к нейронам старых систем, которые вошли в противоречие с изменившимися обстоятельствами среды, или же она отражает процессы специализации новых нейронов и формирования новых систем, обеспечивающих достижение адаптивных результатов в измененных условиях.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Анохин К. В. Молекулярные сценарии консолидации долговременной памяти // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. 1997, 47: 262-286 с.
2. Анохин К. В. Обучение и память в молекулярно-генетической перспективе // Двенадцатые Сеченовские чтения, Москва, 1996, 23-65 с.
3. Эббингауз Г. Очерк психологии. Изд. О. Богдановой. С-Петербург, 1911.

Дополнительная

1. Декарт Р. Избранные произведения. М.: ГИПЛ, 1950.
2. Ламарк Ж-Б. Философия зоологии. Гос. изд. биологической и медицинской литературы. М-Л. 1935.
3. Лурия А. Р. Романтические эссе. М.: Педагогика-Пресс, 1996.
4. Малеева Н. Е., Иволгина Г. Л., Лимборская С. А., Анохин К. В. Анализ экспрессии протоонкогена *c-fos* в коре головного мозга крыс при обучении. Генетика. 1989, 25: 1119-1121.
5. Pfenning A. R., Schwartz R. and Barth A. L. A comparative genomics approach to identifying the plasticity transcriptome. BMC Neuroscience. 2007. 8: 1-18.
6. Davis H. P., Squire L. R. Protein synthesis and memory: a review. Psychol. Bull. 1984, 96: 518-559.
7. Dingman, W., Sporn, M. B. The incorporation of 8-azaguanine into rat brain RNA and its effect on maze- learning by the rat: an inquiry into the biochemical bases of memory. J. Psychiat. Res. 1961. 1, 1-14.
8. Dityatev A, Schachner M. Extracellular matrix molecules and synaptic plasticity. Nat Rev Neurosci. 2003,4: 456-68.
9. Duncan, C.P. The retroactive effect of electroshock on learning. J. Comp. Physiol. Psychol., 1949, 42: 32-44.
10. Hyden H. Quantitative assay of compounds in isolated fresh nerve and glial cells from control and stimulated animals. Nature, 1959, 184: 433-435.
11. Hyden H. and Lange P. Brain cell protein synthesis specifically related to learning. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1970. 65: 898-904.

12. Flavell, S. W. and Greenberg M. E. Signaling Mechanisms Linking Neuronal Activity to Gene Expression and Plasticity of the Nervous System. *Annu. Rev. Neurosci.* 2008, 31: 563-90.
13. Flexner, J. B., Flexner, L. B., Stellar, E. Memory in mice as affected by intracerebral puromycin. *Science*, 1963, 141: 57-59.
14. Frankland P. W. and Bontempi B. The organization of recent and remote memories. *Nature Rev. Neurosci.* 2005, 6: 119-130.
15. Glassman E. The biochemistry of learning: An evaluation of the role of RNA and protein. *Annual Rev. of Biochem.* 1969, 38: 605-646.
16. James, W. *The Principles of Psychology*. 1890, 2 vols., Holt, New York.
17. Lashley K. S. In search of the engram. In: *Physiological Mechanisms in Animal Behaviour* Cambridge University Press., Cambridge. 1950. 454-482.
18. McClung C. A. and Nestler E. J., Neuroplasticity Mediated by Altered Gene Expression. *Neuropsychopharmacol.*, 2008, 33: 3-17.
19. McGaugh J. L. Memory—a Century of Consolidation. *Science*. 2000, 287: 248-251.
20. Muller G. and Pilzecker A. Experimentelle beitrage zur lehre vom gedachtni. *Z. Psychol. Physiol. Sinnesorg. Ergänzungsband*. 1900, 1: 1-18.
21. Nedivi E., Hevroni D., Naot D., et al. Numerous candidate plasticity-related genes revealed by differential cDNA cloning. *Nature*. 1993, 363: 718-721.
22. Ramon y Cajal S. *Archives of Anatomy and Physiology*. 1893, 19: 428-465.
23. Rose S. P. R. Cell-adhesion molecules, glucocorticoids and long-term-memory formation. *Trends in Neurosci.* 1995, 18: 502-506.
24. Semon R. *Die Mneme*. 1904/1921. London, George Allen & Unwin.
25. Tanzi E. I fatti e le induzioni nell' odierna istologia del sistema nervosa. *Riv. Sper. Freiat. Med. Leg. Alien. Ment.* 1893, 19: 419-507.
26. Tischmeyer W., Kaczmarek L., Strauss R., et al. Accumulation of c-fos mRNA in rat hippocampus after acquisition of a brightness discrimination. *Behav. Neural Biol.* 1990, 54: 165-171.
27. Tiunova A. A, Anokhin K. V. and Rose S. P. R. Two critical periods of protein and glycoprotein synthesis in memory consolidation for visual categorization learning in chicks. *Learning and Memory*. 1998, 4: 401-410.
28. Welzl H and Stork O. Cell Adhesion Molecules: Key Players in Memory Consolidation? *News Physiol Sci* , 2003, 18: 147-150.
29. Wang H., Hu Y. and Tsien J. Z. Molecular and systems mechanisms of memory consolidation and storage. *Progr. in Neurobiol.* 2006, 79: 123-135.

Глава 10. НАНОНЕЙРОНИКА ПАМЯТИ

Задача «нейронауки» в целом — объединение отдельных областей биологии, связанных с изучением функций нервной системы. Предлагается расширить понятийный аппарат нейронауки и ввести два новых термина — «нейроника» и «нанонейроника». «Нейроника» как самостоятельный раздел нейронауки фокусирует свое внимание на активности нейрона, объясняемой с привлечением макропараметров клетки. «Нанонейроника» как подраздел «нейроники» вводит дополнительное ограничение на размеры исследуемых в нейроне органелл и нацелена на изучение нанообъектов, определяющих функции клетки на молекулярном и субмолекулярном уровнях. В работе анализируется роль таких нанообъектов нейрона, как «шипик дендрита», «пресинаптический бутон», «микротрубочки» и «ранние и поздние гены» в механизмах синаптической пластичности.

Введение термина нейроника обусловлено стремлением ограничить область исследований, охваченных нейронаукой, направив внимание на механизмы работы нервной клетки. Если нейронаука призвана объединить отдельные области биологии, связанные с функциями нервной системы, такие, как нейрофизиология, нейрогенетика, нейроанатомия, нейрохимия, нейроэндокринология, нейропсихология, то нейроника фокусирует свое внимание на нейроне, привлекая по мере необходимости данные из других дисциплин. Нанонейроника вводит дополнительное ограничение на размеры исследуемых в нейроне органелл. Именно размеры органелл определяют объекты, подлежащие исследованию в нанонейронике. Нейрон является элементом передачи, преобразования и хранения информации, поэтому важнейшее значение в нем имеют те нанообъекты, которые определяют эти функции нейрона. Операции, которые осуществляют эти нанообъекты, лежат на молекулярном и субмолекулярном уровне. К нанообъектам принадлежат пресинаптический бутон и шипик дендрита (Bailey and Chen, 1991).

Пресинаптический бутон представляет собой расширяющееся окончание аксона при достижении им целевой клетки, но отделенное от нее небольшим промежутком — синаптической щелью. В пресинаптической бутоне происходит «упаковка» медиатора в пресинаптические пузырьки — везикулы, окруженные мембраной. Синаптические пузырьки размещаются в ячейках пресинаптической везикулярной решетки, образованных протеиновыми уплотнениями, соединенными белковыми мос-

тиками, которые представляют собой активные зоны. При поступлении по аксону к пресинаптическому бутону нервного импульса происходит вход ионов кальция, которые посредством белка калмодулина активируют один из пузырьков, находящихся в активной зоне. Для активации синаптического пузырька достаточно всего четырех ионов кальция. Активированный пузырек образует канал в пресинаптической мембране, и содержимое везикулы поступает в синаптическую щель, воздействуя на рецепторы постсинаптической клетки. Каждая активная зона может активировать всего один пузырек. Поэтому общее число квантов медиатора, освобожденных приходом одного нервного импульса, определяется числом активных зон данного пресинаптического бутона. Таким образом, выход медиатора в синаптическую щель и его действие на рецепторы постсинаптической клетки в конечном итоге определяются входом ионов кальция в пресинаптический бутон. Это происходит в результате открытия потенциал-зависимых кальциевых каналов под влиянием деполяризации, вызванной приходом потенциала действия, связанного с открытием натриевых каналов. Присоединение к кальциевым каналам ионов тяжелых металлов «запирает» кальциевые каналы и прерывает мобилизацию пресинаптических пузырьков.

Дендриты нейрона являются основным аппаратом получения информации через шипики дендритов. Шипик дендрита представляет собой «грушеобразное выпячивание», оканчивающееся плотно упакованными рецепторами, на которые воздействует медиатор, высвобождающийся из синаптического бутона в синаптическую щель (Николлс и др., 2003). Молекулы рецептора могут находиться в открытом состоянии, присоединяя молекулу медиатора, в закрытом, но активном состоянии, готовые реагировать на приход молекулы медиатора, или в «спящем» состоянии, не реагируя на действие медиатора. Активное состояние определяется фосфорилированием молекулы рецептора под влиянием протеинкиназ. «Спящее» состояние связано с дефосфорилированием под влиянием фосфатаз. Баланс «спящих» и активных молекул рецепторного белка определяет эффективность постсинаптического механизма и пластичность синаптической передачи.

Примером взаимодействия пресинаптического бутона и постсинаптического шипика служит контакт нейрона-детектора с командным нейроном оборонительного поведения моллюска (Sokolov, 1991). Введение красителей разного цвета в нейрон-детектор и командный нейрон соответственно позволили идентифицировать синапс на дендрите командного нейрона (Arakelov et al., 1991, Marakujeva et al, 1992) (рис. 10.1).

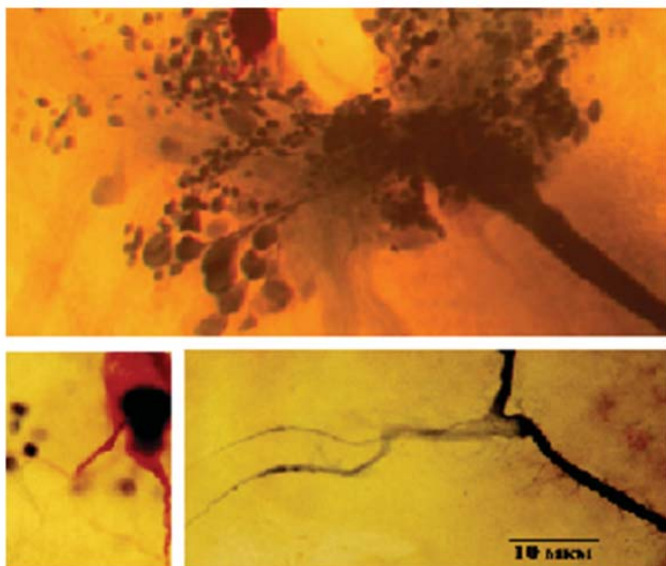


Рис. 10.1. Нейроны центральных ганглиев виноградной улитки. Красным окрашен один из командных нейронов (LPa3), темным — пресинаптические нейроны. Внизу слева представлен участок отростка командного нейрона с отходящими от него дендритами. Реконструкция изображений серийных срезов ганглиев (внизу справа) позволила выявить несколько контактов между отростками нейрона-детектора и командного нейрона (по: Палихова и др., 1992). (Калибровка: 10 мкм соответствует 1000 мкм и 200 мкм на верхних рисунках).

Идентификация нейронов открывает возможность определить локальное рецептивное поле нейрона-детектора и границы гигантского рецептивного поля командного нейрона (Шехтер и Аракелов, 1985; Палихова и Аракелов, 1990). Ввод электродов одновременно в сенсорный и командный нейроны позволил наносить электрическое раздражение на детектор, вызывая всего один потенциал действия, и одновременно регистрировать унитарный ВПСП в командном нейроне (рис. 10.2). Ответ сенсорного нейрона при действии импульсов деполяризующего тока состоит из деполяризации, переходящей в одиночный потенциал действия, за которым следует волна гиперполяризации, переходящая в устойчивый сдвиг деполяризации. При наложении эти реакции сенсорного нейрона точно совпадают друг с другом (рис. 10.2 Б).

Реакции командного нейрона на последовательность потенциалов действия сенсорного нейрона характеризуются убывающей амплиту-

дой ВПСП. При этом одинаковые потенциалы действия нейрона-детектора вызывают в командном нейроне разные по амплитуде, скачкообразно изменяющиеся ВПСП. Это означает, что отдельные потенциалы действия активируют каждый раз разное число активных зон, вызывая в каждой из них высвобождение одного пресинаптического пузырька. Такой квантовый характер изменения амплитуды ВПСП говорит о пресинаптическом механизме этого процесса.

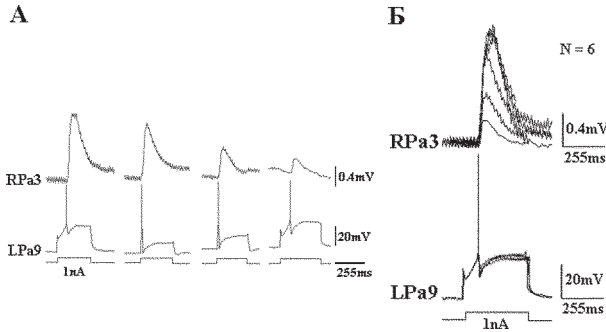


Рис. 10.2. Скачкообразные изменения амплитуды ВПСП. Единичные ВПСП в командном нейроне возникают в ответ на одиночные потенциалы действия в пресинаптическом сенсорном нейроне. **А** — толчки деполяризующего тока 1 нА, подаваемые в сенсорный нейрон (LPa9) с интервалами в 30 сек., вызывают прогрессивно уменьшающиеся по амплитуде ВПСП в командном нейроне (RPa3). **Б** — наложение ВПСП командного нейрона RPa3, вызванных подачей импульсов деполяризующего тока (1 нА) в сенсорный нейрон LPa9, состоит из деполяризационного сдвига, инициирующего одиночный потенциал действия. Реакции сенсорного нейрона при наложении точно совпадают друг с другом. В это время ВПСП командного нейрона скачкообразно уменьшаются в ходе повторных стимуляций сенсорного нейрона. При этом величина скачкообразного снижения амплитуды ВПСП остается постоянной. Такое скачкообразное снижение амплитуды ВПСП отражает уменьшение числа активных зон на пресинаптических бутонах нейрона LPa9, ведущее к редукции мобилизованных квантов медиатора.

Сенсорный нейрон формирует несколько пресинаптических бутонов на отростках командного нейрона, но не все пресинаптические бутоны содержат активные зоны (Bailey, Chen, 1991). При привыкании или сенситизации число пресинаптических бутонов, формирующих активные зоны, меняется. Это хорошо согласуется с представлением о «молчащих синапсах», которые рассматриваются как один из механизмов пластичности мозга (Atwood and Wojtowicz, 1999).

Пресинаптическая пластичность выражается в привыкании в виде систематического уменьшения амплитуды ВПСП, связанного с уменьшением входа кальция в пресинаптический бутон и с уменьшением числа вовлеченных в реакцию активных зон (рис. 10.3 А).

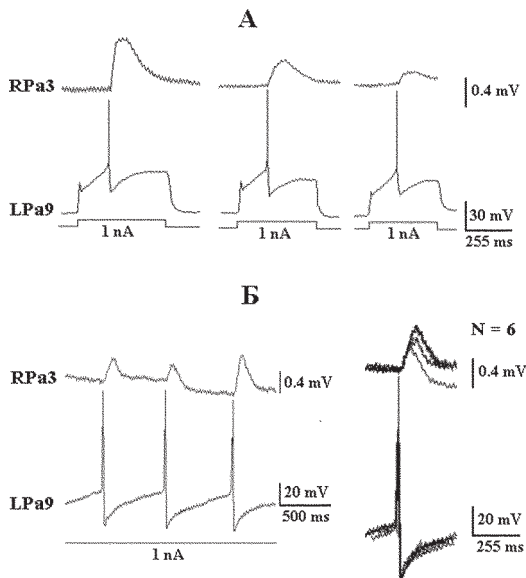


Рис. 10.3. Привыкание и сенситизация ВПСП. **А** — при исходно высоком уровне мобилизации активных зон пресинаптических бутонов повторная стимуляция сенсорного нейрона ведет к привыканию. **Б** — при исходно низком уровне мобилизации активных зон на пресинаптических бутонах повторные потенциалы действия, возникающие в сенсорном нейроне с частотой около 2 Гц в ответ на постоянно действующий деполяризующий ток (1 nA), вызывают сенситизацию, выражающуюся в возрастании амплитуды ВПСП командного нейрона. Наложение нескольких потенциалов нейрона LPa9 и соответствующих ВПСП в командном нейроне RPa3 показывает скачкообразный, квантовый характер изменения амплитуды ВПСП. Сенситизация связана с увеличением числа вовлеченных в реакцию активных зон пресинаптических бутонов нейрона LPa9. При этом сенсорный нейрон генерирует каждый раз только один потенциал действия.

Постсинаптическая пластичность, связанная с градуальным изменением активных рецепторов на постсинаптической мембране дендритного шипика, демонстрируется в виде постепенного изменения амплитуды ВПСП (Рис. 10.4).

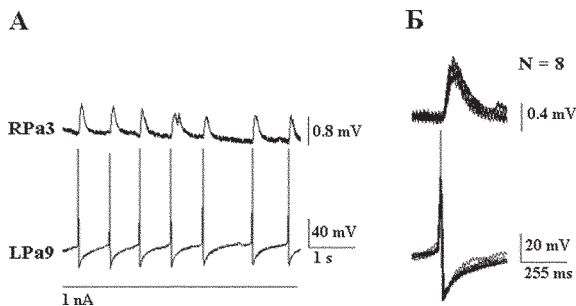


Рис. 10.4. Постсинаптическая пластичность. Устойчивая амплитуда ВПСП командного нейрона RPa3 при деполяризации сенсорного нейрона. При изменении длительности интервалов между потенциалами действия пресинаптического нейрона LPa9 происходит изменение амплитуды ВПСП в постсинаптическом командном нейроне. **А** — генерация пейсмекерных волн и спайков при деполяризации сенсорного нейрона, вызванной инъекцией постоянного тока (1 nA). **Б** — наложение нескольких ($N = 10$) пресинаптических потенциалов действия иллюстрирует плавное, не квантовое изменение амплитуды ВПСП в командном нейроне.

Плавное изменение амплитуды унитарного ВПСП свидетельствует о постсинаптическом механизме, связанном с фосфорилированием или дефосфорилированием молекул рецепторного белка на шипиках постсинаптической клетки. Однако управление кальциевыми каналами на пресинаптическом уровне и процессы фосфорилирования — дефосфорилирования рецепторов на постсинаптическом уровне не могут обеспечить долговременной памяти. Ее формирование требует структурных изменений. Вместе с тем долговременная память включает мгновенное запечатление объектов и событий. Это достигается за счет экспрессии генов под влиянием внешних воздействий (Gall and Lauterborg, 1991).

Экспрессия генов включает два этапа. На первом этапе включают ранние гены, продукты синтеза которых образуют факторы экспрессии более поздних структурных генов. Транскрипция структурных генов ведет к образованию информационной РНК, на которой образуются структурные белки. Белки транспортируются затем к тем участкам нейрона, которые подверглись действию медиатора. Это, прежде всего, шипики дендритов, которые таким образом поддерживаются или возникают вновь. Кроме транспорта структурных белков к шипикам дендритов может перемещаться информационная РНК, а синтез белка происходит локально за счет механизма трансляции, присутствующего в

шипиках. Энергетическое обеспечение трансляции осуществляется митохондриями шипиков. Одновременно происходит рост дендритов, обеспечивающих формирование новых шипиков. Таким образом, структурно долговременная память представлена увеличением количества дендритов и расположенных на них шипиков.

Образование новых синаптических связей при формировании памяти предполагает структурные изменения не только пост-, но и пресинаптических структур. Существуют данные о разрастании аксонных терминалей в процессе обучения. Такие изменения показаны для неассоциативного научения, привыкания и сенситизации морского моллюска *Aplysia* (Bailey and Chen, 1991). При привыкании количество синаптических пузырьков в области активных зон и количество формирующих активные зоны пресинаптических бутонов уменьшается. При сенситизации наблюдаются противоположные изменения. Долговременная сенситизация сопровождается увеличением числа аксонных терминалей, формирующих пресинаптические бутоны, количество которых с течением времени (три недели) уменьшается, но к своему исходному значению не возвращается. Эти данные хорошо согласуются с поведенческой специализацией, происходящей в процессе консолидации при формировании долговременной памяти.

Кроме роста дендритного и аксонного аппарата, у взрослых организмов существует нейрогенез — образование новых нейронов из неспециализированных стволовых клеток. Нейрогенез особенно выражен в гиппокампе — структуре мозга, связанной с памятью. Вновь образованный нейрон, достигая целевой клетки, завершает свою дифференциацию и встраивается в нейронную сеть, образуя синапсы на целевых клетках и получая синаптические контакты от соответствующих элементов нейронной сети и необходимые для выживания нейронов и синапсов факторы, нейротрофины. Вместе с тем нейроны, не востребованные в опыте организма, подвергаются апоптозу — программируемой смерти. Таким образом, индивидуальное развитие предстает перед нами как отбор клеточных групп, напоминающий естественный отбор, но принципиально отличный от него по своим механизмам.

Долговременная память предполагает адресное перемещение макромолекул от подверженного действию медиатора дендритного шипика к специфическому локусу ДНК в ядре клетки, а также от места трансляции белка в цитоплазме к тому дендриту, который был подвергнут действию медиатора. Такое адресное перемещение макромолекул

осуществляется при участии микротубулярного аппарата цитоскелета нейрона. Важнейшая роль в транслокации макромолекул принадлежит микротрубочкам, представляющим собой полые цилиндры диаметром около 25 нанометров. Микротрубочки связаны между собой наподобие ступеней веревочной лестницы мостиками из ассоциированного с микротрубочками белка.

Направление движения диктуется специальными сигнальными белковыми молекулами. Наиболее подробно изучен транспорт органелл по микротрубочкам в аксонах. Антероградный транспорт осуществляется белком-мотором кинезином, а ретроградный — белком дикенином. Перемещение макромолекул и органелл (пузырьков с биологически активными веществами) происходит с затратой энергии, которая черпается из АТФ при переходе его в АДФ.

Однако в настоящее время рассматривается другая функция микротрубочек, а именно информационная, связанная с генерацией в них когерентных биофотонов (Пенроуз и др., 2004; Hameroff et al., 1993; Nagan et al., 1994). Это подобное лазерному излучение не требует «подкачки» световыми вспышками. Оно возникает в результате взаимодействия диполей молекул воды с квантованным электромагнитным полем. В результате, с некоторой вероятностью, возникает упорядоченная группа молекул воды, находящихся на высоком энергетическом уровне. Под влиянием случайных тепловых флуктуаций они совместно переходят на более низкий энергетический уровень, что приводит к генерации когерентных фотонов, которые в импульсном режиме распространяются без потери энергии вдоль микротрубочки подобно тому, как это происходит в оптических волокнах (Prigogine, 1994; Пригожин, Стенгерс, 2000). Достигая критических участков, фотоны поглощаются, запуская активацию рецепторов в дендритных шипиках или молекул калмодулина в пресинаптических бутонах.

Таким образом, нейрон приобретает в дополнение к ионным механизмам передачи сигналов внутриклеточную сеть сверхскоростной оптической сигнализации. Такая оптическая сигнализация позволяет объяснить целесообразное поведение таких одноклеточных организмов, как парамеция, демонстрирующая приближение к пищевым объектам и уход от вредных объектов. Кроме того, парамеция обнаруживает способность к элементарному научению в форме привыкания, сенситизации и выработки ассоциаций.

Заключая, можно сказать, что механизм памяти распределен в локальных взаимодействиях пресинаптических бутонов с дендритными

шипами постсинаптической клетки. Пресинаптическая пластичность выражается в мобилизации — демобилизации активных зон на пресинаптической решетке бутонов аксонных терминалей, определяющей квантовый состав выброса медиатора. Долговременные процессы сопровождаются изменениями числа аксонных терминалей и включением в сеть новых нейронов, формирующихся из стволовых клеток. На постсинаптическом уровне пластичность определяется соотношением фосфорилированных — дефосфорилированных молекул рецепторного белка. Кратковременные процессы дополняются структурными перестройками, включающими экспрессию ранних и поздних структурных генов, что требует передачи информации от дендритного шипика к ядру нейрона и транспорта синтезированных белков из цитоплазмы к шипику дендрита. Этот перенос макромолекул осуществляется микротубулярным аппаратом. В литературе обсуждается гипотеза о том, что микротрубочки реализуют также функцию световодов, связывающих между собой отдельные синапсы нейрона.

Выводы

- «Нейронаука» призвана объединить отдельные области биологии, связанные с функциями нервной системы. «Нейроника» фокусирует свое внимание на нейроне, привлекая по мере необходимости данные из других дисциплин. «Нанонейроника» нацелена на изучение нанобъектов, определяющих функции клетки на молекулярном и субмолекулярном уровнях.
- К нанобъектам принадлежат «пресинаптический бутон» и «шипик дендрита».
- Пресинаптический бутон представляет собой окончание аксона, расширяющееся в месте его контакта с целевой клеткой и отделенное от нее синаптической щелью.
- Шипик дендрита представляет собой «грушеобразное выпячивание», оканчивающееся плотно упакованными рецепторами, на которые воздействует медиатор, высвобождающийся из синаптического бутона в синаптическую щель.
- Механизм памяти распределен в локальных взаимодействиях пресинаптических бутонов с дендритными шипиками постсинаптической клетки.
- Пресинаптическая пластичность выражается в мобилизации — демобилизации активных зон на пресинаптической решетке бутонов аксонных терминалей, определяющей квантовый состав выброса медиатора.

- На постсинаптическом уровне пластичность определяется соотношением фосфорилированных — дефосфорилированных молекул рецепторного белка.

- Кратковременные процессы дополняются структурными перестройками, включающими экспрессию ранних и поздних структурных генов, что требует передачи информации от дендритного шипика к ядру нейрона и транспорта синтезированных белков из цитоплазмы к шипику дендрита. Этот перенос макромолекул осуществляется микротубулярным аппаратом.

- В литературе обсуждается гипотеза о том, что микротрубочки реализуют также функцию световодов, связывающих между собой отдельные синапсы нейрона.

- В ряде случаев долговременные процессы сопровождаются не только изменениями числа аксонных терминалей, но и включением в сеть новых нейронов, формирующихся из стволовых клеток.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Николлс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. М.: Едиториал УРСС. 2003. 672 с.

2. Палихова Т. А., Араkelов Г. Г. Моносинаптические связи в центральной нервной системе виноградной улитки: рецептивные поля пресинаптических нейронов // Журн. высш. нерв. деят. 1990. Т. 40. № 6. С. 1186-1189.

3. Палихова Т. А., Маракуева И. В., Араkelов Г. Г. Моно- и полисинаптические связи между идентифицированными нейронами в системе пассивно-оборонительного рефлекса виноградной улитки // Журн. высш. нерв. деят. 1992. Т. 42. № 6. С.1170-1179.

4. Пенроуз Р., Шимони А., Картрайт, Н., Хокинг С. Большое, малое и человеческий разум. Москва: Мир. 2004.

5. Пригожин И., Стенгерс И. Время, хаос, квант: К решению парадокса времени. М.: Едиториал УРСС. 2000.

6. Шехтер Е. Д., Араkelов Г. Г. Рецептивное поле командного нейрона // Вопросы кибернетики. Нейрокибернетический анализ механизмов поведения. Е. Н. Соколов и Л. А. Шмелев (Ред.). М.: Наука. 1985. С. 64-84.

Дополнительная

1. Arakelov G. G., Marakujeva I. V., Palikhova T. A. Structural and functional analysis of monosynaptic connections between identified neurones of *Helix lucorum* // In: Simpler nervous systems. D.A. Sakharov, W. Winlow (Eds.), Manchester University Press. Studies in Neuroscience. 1991. № 13. Ch.16. PP. 258-269.

2. Atwood H. L. and Wojtowicz, J. M. Silent synapses in neural plasticity: current evidence // *Learning and Memory*. 1999. Vol. 6. № 6. PP. 542-571.
3. Bailey C. H. and Chen M. The anatomy of long-term sensitization in *Aplysia*: morphological insights into learning and memory // In: *Memory: organization and locus of change*. L. R. Squire, N.M. Weinberger, G. Lynch, J. McGaugh (Eds.), New York — Oxford, Oxford University Press, 1991. PP. 273-300.
4. Eccles J. C. Evolution of complexity of the brain with emergence of consciousness // In: *Rethinking neural networks: quantum fields and biological data*. K.H. Pribram (Ed.). Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates, Publishers. 1993. PP. 3-28.
5. Gall Ch. M., Lauterborn J. C. Activity-dependent neuronal gene expression: a potential memory mechanism? // In: *Memory: organization and locus of change*. L. R. Squire, N. M. Weinberger, G. Lynch, J. McGaugh (Eds.), New York — Oxford, Oxford University Press. 1991. PP. 301-329.
6. Hagan S., Jibu M., Yasue K. Consciousness and anesthesia: an hypothesis involving biophoton emission in the microtubular cytoskeleton of the brain // In: *Origins: brain and self-organization*. K. H. Pribram (Ed.). Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates, Publishers. 1994. PP.153-171.
7. Hameroff S., Dayhoff J.E., Lahoz-Bettra R., Rasmussen S., Insina E. M., and Coruga D. Nanoneurology and cytoskeleton: quantum signaling and protein conformational dynamics as cognitive substrate // In: *Rethinking neural networks: quantum fields and biological data*. K. H. Pribram (Ed.), Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates, Publishers. 1993. PP. 319-365.
8. Marakujeva I. V., Palikhova T. A., Trepakov V. V., Arakelov G. G. Identified synapses in the snail's brain // *Neuroinformatics and Neurocomputers*. RNNS/IEEE, Rostov-on-Don. 1992. V.1. PP. 497-508.
9. Prigogine I. Mind and matter: Beyond the Cartesian dualism // In: *Origins: brain and self-organization*. K. H. Pribram (Ed.), Hillsdale, Lawrence Erlbaum Associates, Publishers. 1994. PP. 3-15.
10. Sokolov E. N. Local plasticity in neuronal learning // In: *Memory: organization and locus of change*. L. R. Squire, N. M. Weinberger, G. Lynch, J. McGaugh (Eds.), New York — Oxford, Oxford University Press. 1991. PP. 364-391.

**Раздел IV. ОРГАНИЗАЦИЯ
И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ
РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ НЕЙРОЦИТОВ
(СЕНСОРНЫЕ РЕЦЕПТОРЫ,
ПЕЙСМЕКЕРНЫЕ НЕЙРОНЫ, ГЛИЯ)**

Глава 11. РЕЦЕПЦИЯ В СЕНСОРНЫХ СИСТЕМАХ: МЕХАНОРЕЦЕПЦИЯ, ХЕМОРЕЦЕПЦИЯ, ТЕРМОРЕЦЕПЦИЯ, НОЦИЦЕПЦИЯ

Внешние стимулы разной физической природы вызывают реакции в чувствительных окончаниях сенсорных клеток (рецепторные потенциалы), которые затем преобразуются в нервное возбуждение проводящих путей и специализированных сенсорных центров мозга. Живые организмы способны реагировать на:

— механические воздействия — непосредственный контакт с объектами внешней среды, силу тяжести, колебания водной и воздушной среды, смещения частей организма друг относительно друга (механорецепция);

— на химический состав внешней и внутренней среды (хеморецепция);

— температуру (терморецепция);

— на световые излучения — изменения яркостных и спектральных свойств среды (фоторецепция).

Некоторые организмы реагируют на другие воздействия: магнитные и электрические поля, поляризованный свет, а также инфракрасное излучение. Хемо- и механорецепция являются эволюционно более древними приобретениями организмов. Хеморецепция лежит в основе общей химической чувствительности, обоняния и вкуса. Механорецепция лежит в основе кинестезии, чувства равновесия и слуха. Также выделяется болевая рецепция (ноцицепция).

11.1. Механорецепция

Механочувствительные ионные каналы обнаружены повсеместно: в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, в барорецепторах синусов, в рецепторах прикосновения и давления в коже, в мышечных рецепторах и в механочувствительных волосковых клетках внутреннего уха позвоночных и органа боковой линии у рыб.

Механочувствительные каналы E. coli

В мембранах E. coli методом регистрации одиночных ионных каналов мембраны (пэтч-кламп) обнаружено два типа ионных каналов с высокой (3000 пСи) и малой проводимостью (1000 пСи). При латераль-

ном напряжении (растяжении мембраны) открываются катионные каналы, что приводит к деполяризации мембраны. Предполагается, что эти катионные каналы связаны с осморегуляцией и противодействуют осмотическому напряжению, уменьшая градиент концентраций.

Рецепторы растяжения мембраны осморецепторных клеток

У млекопитающих осморецепторы представляют собой крупноклеточные нейроны, расположенные в паравентрикулярном ядре гипоталамуса и супраоптическом ядре. Эти нейроны посылают аксоны к задней доле гипофиза, где выделяют пептиды вазопрессин и окситоцин. Частота импульсации крупноклеточных нейронов зависит от осмотического давления (осмолярности). Гипотоничность внутриклеточной жидкости уменьшает частоту импульсации (гиперполяризация), а гипертоничность — увеличивает частоту импульсации (деполяризация). Изменения осмолярности вызывают изменение объема крупноклеточных нейронов: при уменьшении объема (гипертоничность) увеличивается проводимость для Na^+ и K^+ . В отличие от механочувствительных каналов E. coli эти каналы активируются сжатием мембраны.

Рецепторы растяжения речного рака

Рецептор растяжения речного рака своими дендритами контактирует с мышечной клеткой. При растяжении рецептор деполяризуется и, если уровень деполяризации достигает -20 мВ (потенциал покоя составляет -70 мВ), рецептор генерирует спайки. Механизмом активации рецепторов растяжения являются токи, обусловленные увеличением катионной проводимости (Na^+ , K^+ и Ca^{2+}) при растяжении мембраны. Такая катионная проводимость оказалось нечувствительной к тетродотоксину. Адаптация рецепторов растяжения, предположительно, происходит из-за активации Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов, которые обеспечивают реполяризацию мембраны.

Рецепторы растяжения в мышечных веретенах скелетных мышц млекопитающих

Сенсорное окончание рецепторной клетки (сенсорного нейрона) спирально накручено на интрафузальное волокно поперечнополосатой мышцы внутри веретена (рис. 11.1). На поверхности сенсорного окончания расположены ионные каналы, которые открываются при растяжении мембраны при мышечном сокращении. Предполагается, что открытие ионных каналов связано с растяжением нитей цитоскелета,

которые соединяют эти каналы между собой. Возникающий при этом катионный ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$) ток деполяризует мембрану (рецепторный потенциал). Если уровень деполяризации достигает критического уровня, в сенсорном нейроне генерируется нервный импульс. При исследовании мембраны сенсорного окончания методом пэтч-кламп показано, что с увеличением степени растяжения интрафузального волокна монотонно увеличивается вероятность и продолжительность открытия катионных каналов.

Предполагается, что механорецепторы в сухожилиях и суставах функционируют по сходному механизму.

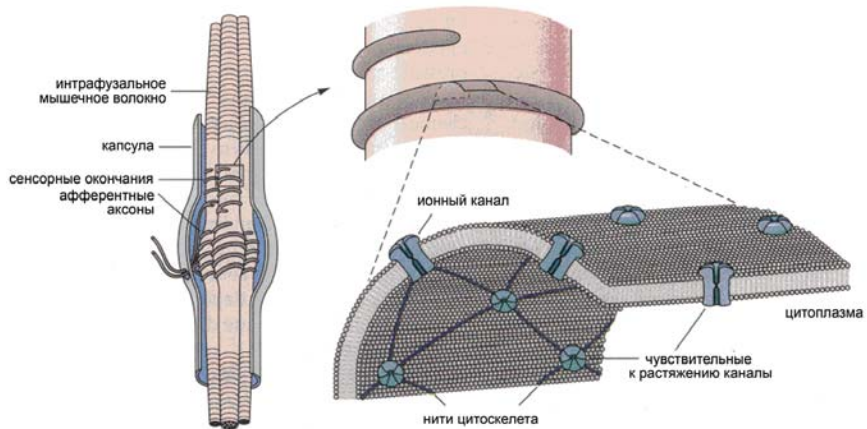


Рис. 11.1. Сенсорное окончание рецепторной клетки (сенсорного нейрона) спирально накручено на интрафузальное волокно поперечнополосатой мышцы внутри веретена. На поверхности сенсорного окончания расположены ионные каналы, которые соединены между собой нитями цитоскелета.

Рецепторы осязания у нематод

Осязательные рецепторные нейроны нематод имеют пучок крупных микротрубочек, обращенных наружу тела. По строению они сходны с эпителиальными клетками млекопитающих. Мембранный рецептор представляет собой канал, встроенный в мембрану рецепторной клетки и механически связанный с кутикулой. При давлении на кутикулу открывается ионный канал для Na^+ , что приводит к деполяризации рецепторного нейрона.

Тактильные рецепторы кожи млекопитающих

Тактильные рецепторы кожи млекопитающих многообразны по морфологии и функциям.

Они подразделяются на две группы по способности к адаптации. Выделяют быстро адаптирующиеся рецепторы — рецепторы давления (тельце Пачини), тельце Мейснера, терминальные колбы Краузе и рецепторы волосяных фолликулов. К медленно адаптирующимся рецепторы относят клетки Меркеля, окончания Руффини и С-механорецепторы (обеспечивают также ноцицептивную чувствительность).

Общим механизмом активации тактильных рецепторов является генерация катионных токов (Na^+ , K^+ и Ca^{2+}) при механическом воздействии на мембрану. Одним из механизмов адаптации, по-видимому, является активации Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов.

Механоэлектрическая передача возбуждения в волосковых клетках

Волосковые клетки являются рецепторами, обеспечивающими чувствительность организмов к механическим воздействиям (колебаниям водной и воздушной среды). Волосковые клетки изучены в ряде сенсорных образований — в мембранном лабиринте позвоночных, включающем полукружные каналы, утрикулус, саккулус (органы равновесия) и улитку (орган слуха), а также в органе боковой линии у рыб.

Структура волосковых клеток показана на рисунке 11.2. На кутикулярной пластинке располагаются до 60 стереоцилий и одна киноцилия. Длина стереоцилий увеличивается по направлению к киноцилии. Кончики стереоцилий связаны между собой тонкими полипептидными нитями.

Нити, соединяющие стереоцилии, связаны с ионными каналами, пропускающими ионы K^+ и Ca^{2+} . Число катионных каналов у волосковой клетки очень мало и насчитывает всего несколько каналов на каждую стереоцилию, поэтому при возбуждении волосковой клетки катионная проводимость не превышает 50 пСи. В эндолимфе, в которую погружены стереоцилии, отмечается высокая концентрация K^+ . В состоянии покоя возникают небольшие токи катионов, которые слегка деполяризуют волосковую клетку, эта деполяризация вызывает небольшую частоту импульсации в афферентном (дендритном) окончании кохлеарного нерва. Модельные расчеты показывают, что вероятность открытия катионных каналов в покое составляет около 0,1. Показано также, что движение стереоцилий под прямым углом относительно оси от коротких стереоцилий к киноцилии не вызывает изменений мемб-

ранного потенциала. Когда при механическом воздействии стереоцилии смещаются в сторону киноцилии, вероятность открытия катионных каналов увеличивается до 1, волосковая клетка деполяризуется, а частота импульсации в афферентном окончании кохлеарного нерва увеличивается (рис. 11.3). При пороговых сдвигах стереоцилий мембранный (рецепторный) потенциал волосковой клетки достигает 100 мкВ. Если стереоцилии смещаются в противоположную сторону от киноцилии, каналы закрываются, что приводит к гиперполяризации волосковой клетки, при этом частота импульсации афферентного окончания кохлеарного нерва становится минимальной.

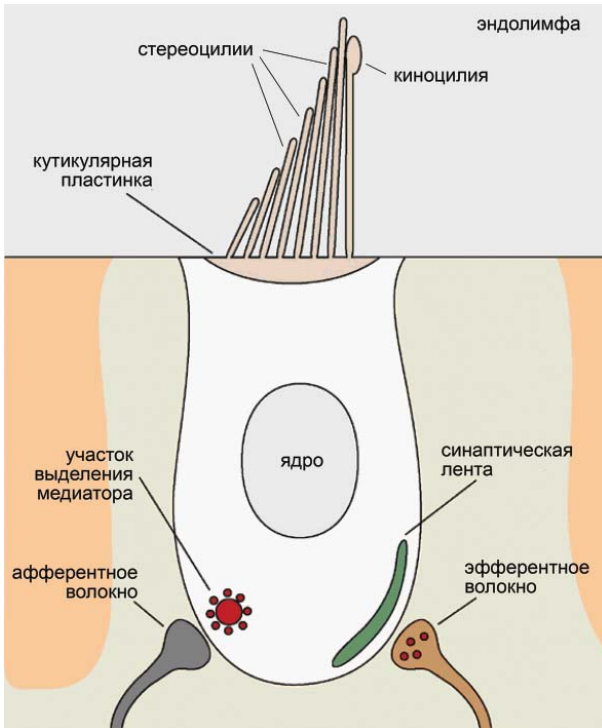


Рис. 11.2. Структура волосковых клеток. На кутикулярной пластинке располагаются до 60 стереоцилий и одна киноцилия. Длина стереоцилий увеличивается по направлению к киноцилии. Кончики стереоцилий связаны между собой тонкими полипептидными нитями. По афферентным волокнам кохлеарного нерва возбуждение передается в нервные центры, по эфферентным волокнам происходит регуляция состояния волосковой клетки.

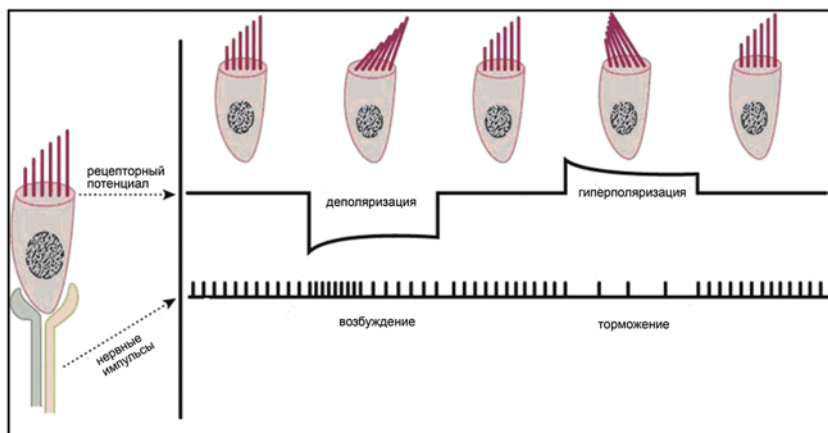


Рис. 11.3. Механизм активации волосковой клетки. Если при механическом воздействии стереоцилии смещаются в сторону киноцилии, волосковая клетка деполяризуется и частота импульсации в афферентном окончании кохлеарного нерва увеличивается. Если стереоцилии смещаются в противоположную сторону от киноции, волосковая клетка гиперполяризуется и частота импульсации афферентного окончания уменьшается.

Кроме потока Ca^{2+} , через ионные каналы стереоцилий ионы Ca^{2+} входят в клетку через потенциалзависимые каналы в кутикулярной пластинке. Эти каналы открываются вследствие деполяризации мембраны при отклонениях стереоцилий. При увеличении внутриклеточной концентрации Ca^{2+} происходит выделение медиатора (предположительно глутамата) из волосковой клетки в той части ее мембраны, которая контактирует с афферентным волокном кохлеарного нерва. Глутамат, воздействуя на рецепторы афферентного волокна, вызывает генерацию нервных импульсов, которые распространяются по сенсорному нерву.

Ответы, вызываемые движением стереоцилий, начинаются через несколько микросекунд и насыщаются примерно через 100 мкс. Быстрая реполяризация мембраны стереоцилий после возбуждательного воздействия происходит за счет активации Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов.

11.2. Хеморецепция

Хеморецепция обеспечивает чувствительность организмов к молекулярному составу окружающей среды. В отличие от механорецепторов, молекулярный механизм трансдукции химического сигнала хемо-

рецепторами является общим для многих из них и основан на преобразовании сигнала с участием G-белков. Вследствие этого хеморецепция происходит медленнее, чем механорецепция. Хемочувствительность у позвоночных подразделяют на три чувства — общее химическое чувство, обоняние и вкус.

11.2.1. Контроль парциального давления O_2 и CO_2 во внеклеточной жидкости

Рецепторы дыхательных газов подразделяют на периферические и центральные. К периферическим относят каротидные тельца, расположенные во внутренней сонной артерии. Они чувствительны к повышению парциального давления CO_2 ($PdCO_2$), когда PdO_2 постоянно, и к падению PdO_2 , когда $PdCO_2$ постоянно. Активация этих рецепторов приводит к увеличению импульсации в афферентных волокнах. Другие периферические рецепторы, аортальные тельца в дуге аорты, чувствительны к падению PdO_2 .

Центральные рецепторы, расположенные в продолговатом мозге, возбуждаются при снижении РН в их цитоплазме.

Чувствительность к $PdCO_2$

Предложены две гипотезы, объясняющие чувствительность рецепторов к $PdCO_2$.

1) При снижении PdO_2 закрываются K^+ -каналы, что приводит к деполяризации рецепторов. В результате деполяризации в мембране рецепторов открываются потенциалзависимые Ca^{2+} каналы, что приводит к выделению дофамина или норадреналина. Каков механизм закрытия K^+ -каналов? При низком уровне O_2 в тканях снижается уровень АТФ в клетках, что обуславливает закрытие АТФ-зависимых K^+ -каналов. Кроме того, к деполяризации может приводить и выделение из митохондрий Ca^{2+} .

2) K^+ -канал в мембранах ассоциирован с O_2 -чувствительным гем-белком. При оксигенации гемоглобин и миоглобин изменяют свою конформацию и действуют на мембранно-связанный гем-белок, что и приводит к закрытию K^+ -канала.

Чувствительность к PdO_2

В организме к изменению PdO_2 чувствительны каротидные тельца и медуллярные хеморецепторы. Повышение $PdCO_2$ приводит к повышению H^+ (при диссоциации H_2CO_3 на H^+ и HCO_3^-). H^+ диффундирует

в клетки и, уменьшая РН, активирует насос, переносящий Na^+ в клетку в обмен на H^+ . В свою очередь повышение концентрации внутриклеточного Na^+ запускает $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменник (антипорт, разд. 6.8.12), в результате чего повышается содержание Ca^{2+} в клетке и выделяются катехоламины.

11.2.2. Вкус

Чувство вкуса в организме обеспечивают вкусовые рецепторные клетки. Вкусовые рецепторные клетки не являются нейронами и при возбуждении выделяют медиатор, который действует на афферентные волокна вкусовых нейронов.

Механизм активации вкусовых рецепторных клеток зависит от химических свойств действующих веществ. Современные представления о вкусе основаны на том, что вкусовое ощущение человека может быть разложено на четыре основных компонента (подмодальности): сладкое, соленое, кислое и горькое. В последнее время выделяют еще ряд вкусовых ощущений, включающих вкус глутамата натрия, называемый по-японски умами, вкус воды и некоторые другие.

Субъективное ощущение вкуса веществ зависит от множества факторов: от концентрации химических агентов (разные концентрации вызывают субъективно разное ощущение), от временного взаимодействия различных вкусовых агентов, от температуры растворов и проч. Для различных подмодальностей вкусовых агентов исследованы молекулярные механизмы активации соответствующих им вкусовых рецепторов.

Сладкое

Сладкие вещества активируют рецептор сахарозы (сходный с метаботропным рецептором глутамата), в результате через G-белок активируется аденилатциклаза. Синтезированный цАМФ активирует протеинкиназу А, что приводит к закрытию K^+ -каналов. цАМФ напрямую может открывать $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ воротный механизм. Деполяризация и повышение концентрации внутриклеточного Ca^{2+} вызывают выделение медиатора.

Возможен также и другой механизм активации рецептора через активацию фосфолипазы С с последующим синтезом ИФ_3 . ИФ_3 освобождает Ca^{2+} из внутриклеточных депо, что приводит к выделению медиатора.

Соленость

При действии соленого агента Na^+ входит в клетку через Na^+ -специфические каналы, которые не являются потенциал-зависимыми. Возникающая деполяризация активирует потенциал-зависимые выходящий K^+ - и входящий Ca^{2+} -ток в мембране рецептора, что приводит к выделению медиатора.

Кислое

Предполагают два пути действия кислых агентов на рецепторы:

1) Поток H^+ внутрь рецептора напрямую блокирует ток утечки K^+ и вызывает деполяризацию, открывая Ca^{2+} -каналы с последующим выделением медиатора.

2) H^+ проходят через Na^+ -специфические каналы, которые блокируются амилоридом. Последующая деполяризация вызывает поток Ca^{2+} внутрь клетки и выделение медиатора.

Горькое

Существует несколько механизмов активации рецепторов горькими агентами.

1) Горький агент может напрямую блокировать K^+ -токи утечки.

2) Горький стимул денатониум связывается со специфическим вкусовым рецептором (T2R), активируя G-белок густодуцин (передатчик вкуса, по функциям похож на трансдуцин фоторецепторов). α -субъединица густодуцина активирует фосфодиэстеразу, которая уменьшает концентрацию внутриклеточной цАМФ, превращая ее в 5'-АМФ. В мембранах вкусовых рецепторных клеток при повышенной концентрации цАМФ катионные каналы остаются закрытыми (в отличие от наружных сегментов фоторецепторов). Снижение концентрации цАМФ в результате ее гидролиза в 5'-АМФ приводит к открыванию катионных каналов.

3) Комплекс β/γ -субъединиц густодуцина активирует фосфолипазу С. Синтезированный ИФ₃ вызывает выброс Ca^{2+} из внутриклеточных депо, и Ca^{2+} запускает выделение медиатора деполяризации.

Аминокислоты

У некоторых рыб описаны вкусовые клетки, высокочувствительные к отдельным аминокислотам. Так, аминокислоты L-аргинин и L-пролин напрямую активируют лиганд-активируемые катионные ка-

налы, что приводит к деполяризации рецепторов. У млекопитающих в особом типе вкусовых рецепторов L-глутамат активирует метаботропные глутаматные рецепторы (mGluR4, предполагаемый рецептор умами), которые через G_i -белки ингибируют аденилатциклазу. Пока остается неисследованным механизм, как возникает деполяризация вкусовых рецепторов при уменьшении концентрации внутриклеточного цАМФ.

11.2.3. Обоняние

Обонятельные рецепторы являются нейронами, аксоны которых проецируются в обонятельную луковицу. Одна обонятельная клетка реагирует только на один одорант, т.е. содержит в мембране рецептор только одного типа. Предполагается два механизма трансдукции сигнала в обонятельных рецепторных нейронах.

1) Молекула одоранта взаимодействует со специфическим рецептором, расположенным на мембране сенсорной цилии — длинного отростка обонятельного рецептора. В результате взаимодействия активируется G-белок, который активирует аденилатциклазу. Увеличение концентрации внутриклеточной цАМФ приводит к активации неселективных катионных каналов. Кроме того, увеличение концентрации Ca^{2+} приводит к открытию Ca^{2+} -управляемых Cl^- -каналов, которые пропускают Cl^- из клетки по концентрационному градиенту.

2) Другой путь деполяризации рецептора заключается в активации фосфолипазы C, инициирующей каскад мембранных липидов. Вторичный посредник $ИФ_3$ напрямую активирует Ca^{2+} -каналы плазматической мембраны.

Все эти события приводят к деполяризации и генерации нервных импульсов.

11.3. Терморцепция

В коже млекопитающих на изменения температуры реагируют свободные нервные окончания. Аδ- (холодовые) и С-афференты (тепловые) от кожных терморцепторов оканчиваются в дорзальных рогах спинного мозга. Изменение температуры приводит к открытию в мембранах этих афферентов неспецифических катионных каналов. Деполяризация терморцепторов приводит к генерации нервных импульсов.

11.4. Болевая рецепция (ноцицепция)

Ноцицептивные волокна не имеют специализированных окончаний, а представляют собой свободные нервные окончания в коже и многих других частях организма. Ноцицепция возникает из сочетания прямых и непрямых воздействий на периферические сенсоры. Сильное нагревание вызывает открытие неспецифических катионных каналов в окончаниях С-волокон. Входящие Na^+ - и Ca^{2+} -токи деполяризуют волокно, что приводит к генерации нервных импульсов в клетке. Кислоты (протоны) также напрямую могут открывать катионные каналы. Кроме того, деполяризацию ноцицепторов могут вызывать и механически воздействия.

При повреждениях тканей выделяются различные химические активаторы, например АТФ. На мембранах нейронов ганглиев задних корешков спинного мозга, образующих С-волокна, найдены пуриновые рецепторы P2X_3 . АТФ, воздействуя на эти лиганд-активируемые рецепторы, открывает неспецифические катионные каналы, что приводит к возбуждению ноцицепторов.

Выводы

- Внешние сигналы разной физической природы воздействуют на специализированные сенсорные рецепторы, в результате чего в них возникают электрические потенциалы. По механизму активации сенсорные рецепторы подразделяют на механо-, хемо-, фото- и терморепцепторы.

- Механочувствительные ионные каналы обнаружены повсеместно: в эндотелиальных клетках кровеносных сосудов, в барорецепторах синусов, в рецепторах прикосновения и давления в коже, в мышечных рецепторах и в механочувствительных волосковых клетках внутреннего уха позвоночных и органа боковой линии у рыб.

- Хеморецепция обеспечивает чувствительность организмов к молекулярному составу окружающей среды. В отличие от механорецепторов, молекулярный механизм трансдукции химического сигнала хеморецепторами является общим для многих из них и основан на преобразовании сигнала с участием G-белков.

- В коже млекопитающих на изменения температуры реагируют свободные нервные окончания. Аδ- (холодовые) и С-афференты (тепловые) от кожных терморепцепторов оканчиваются в дорзальных рогах спинного мозга.

- Болевая рецепция (ноцицепция) возникает из сочетания прямых и непрямых воздействий на периферические сенсоры.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Ашмарин И. П. Биохимия мозга. СПб.: Изд-во С.-Петербургского ун-та, 1999.
2. Николс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. М.: Едиториал УРСС, 2003.
3. Смит К. Биология сенсорных систем. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2005
4. Шульговский В. В. Физиология центральной нервной системы. М.: МГУ, 1997.

Дополнительная

1. Гранит Г. Основы регуляции движений. М.: Мир, 1973.
2. Катц Б. Нерв, мышца, синапс. М.: Мир, 1968.
3. Zigmond M. J., Bloom F. E., Landis S. C., Roberts J. L. Squire., L. R. Fundamental Neuroscience. Academic Press, San Diego, London, 1999.

Глава 12. РЕЦЕПЦИЯ В СЕНСОРНЫХ СИСТЕМАХ: ФОТОРЕЦЕПТОРЫ

Рассмотрены общая морфология фоторецепторов сетчатки позвоночных животных, механизмы генерации светового ответа и выделения медиатора фоторецепторами. Приводятся современные данные о молекулярных механизмах фототрансдукции, о роли потенциал-зависимых ионных каналов, рецепторов ГАМК, переносчиков и рецепторов глутамата в модуляции выделения медиатора синаптическими терминалями фоторецепторных клеток.

12.1. Морфология фоторецепторов сетчатки позвоночных

12.1.1. Общая характеристика

У всех позвоночных животных, включая человека, сетчатка содержит два типа фоторецепторов, различающихся морфологически и функционально. Колбочки — относительно крупные клетки конической формы, преобладают у животных, ведущих дневной образ жизни. Палочки — более тонкие и вытянутые клетки, обладающие значительно большей чувствительностью к свету, чем колбочки, доминируют в сетчатке животных с ночным образом жизни (Cajal, 1892; Polyak, 1941; Dowling, Boycott, 1966; Shkolnik-Yarros, 1971 и др.).

Колбочки сетчатки млекопитающих относятся к одному морфологическому типу — одиночные колбочки, тогда как в сетчатке низших позвоночных представлены не только одиночные, но и двойные колбочки, состоящие из основного и дополнительного члеников (Cajal, 1892; Marc, Sperling, 1976).

У большинства млекопитающих выявлены палочки и один—два типа колбочек, различающихся по спектральной чувствительности. Только в сетчатке приматов и человека представлены три типа колбочек, чувствительных в синей ($\lambda = 445$ нм), зеленой ($\lambda = 535$ нм) и красной ($\lambda = 570$ нм) областях спектра (Gougas, 1984). Колбочки, чувствительные к коротковолновому свету, обладают некоторыми морфологическими особенностями, отличающими их от остальных фоторецепторов (Ahnelt e.a., 1990).

Кроме того, в отличие от зелено- и красночувствительных колбочек, распределенных по сетчатке практически одинаково и равномерно, колбочки, чувствительные к синему свету, относительно малочис-

ленны и составляют 8% , 3-5% и 15% от общего числа колбочек на периферии сетчатки, в центре и на периферии фовеа, соответственно (Ahnelt e.a., 1987).

Спектральные характеристики колбочек у домлекопитающих позвоночных отличаются значительно большим разнообразием, а рыбы семейства карповых являются своего рода «приматами среди рыб». В сетчатке этих животных наряду с палочками представлены три типа колбочек, содержащих зрительные пигменты с максимумом чувствительности в синей, зеленой либо красной областях спектра ($\lambda=445$ нм, $\lambda=535$ нм и $\lambda=570$ нм).

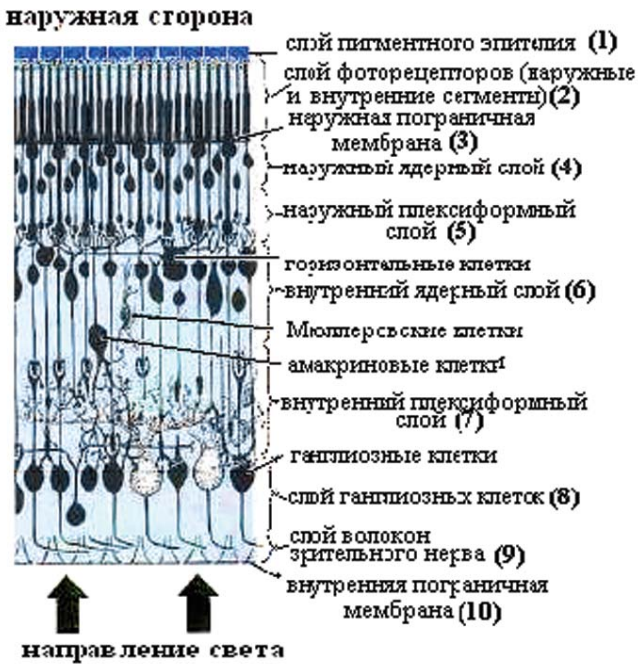


Рис. 12.1. Основные клеточные элементы сетчатки (по Polyak, 1941).

Пигменты с различными спектральными характеристиками содержатся, как правило, в разных фоторецепторах. До недавнего времени исключением считались двойные колбочки низших позвоночных, имеющие неодинаковые спектральные характеристики пигмента дополнительной и основной колбочки (Liebman, Entine, 1968; Marc, Sperling,

1976). Однако оказалось, что в сетчатке мыши наряду с сине- и зеленочувствительными колбочками, содержащими пигменты, чувствительные к свету, с длиной волны 360 нм и, соответственно, 508 нм, есть колбочки, содержащие оба пигмента. (Applebury e.a., 2000).

12.1.2. Распределение фоторецепторов по сетчатке.

Фоторецепторы обоих типов ориентированы перпендикулярно к поверхности сетчатки и образуют наружные слои, наиболее удаленные (дистальные) от света, падающего на сетчатку (рис. 12.1).

Первый наружный слой сетчатки образуют клетки пигментного эпителия (1), примыкающего к сосудистой оболочке глаза. Второй слой (2) сформирован наружными и внутренними сегментами фоторецепторов, а четвертый — наружный ядерный слой (4) — образуют тела фоторецепторов, содержащие клеточные ядра. Второй и четвертый слои разделены так называемой наружной плазматической мембраной (слой 3), образованной горизонтальными отростками глиальных (Мюллеровских) клеток. Аксоны фоторецепторов, отходящие от сомы фоторецепторных клеток, и контактирующие с ними отростки биполярных и горизонтальных клеток образуют наружный сетевидный (плексиформный) слой (5).

Распределение палочек и колбочек по сетчатке неодинаково. У млекопитающих палочки, составляющие подавляющее большинство фоторецепторов на периферии сетчатки, весьма малочисленны в центральной зоне (area centralis) либо совсем отсутствуют в области фовеа (центральной ямки, центра сетчатки) сетчатки приматов. Количество колбочек, наоборот, возрастает в центральной зоне сетчатки и убывает на периферии. В фовеа приматов и человека численность колбочек настолько велика, что расстояние между центрами фоторецепторов составляет 2–3 мкм, а сами колбочки становятся тоньше, чем палочки, и образуют мозаику в форме плотно упакованных гексагональных образований. Большая плотность фоторецепторов обеспечивает высокую разрешающую способность (1 угловая минута) этой области сетчатки (Wassle, Boycott, 1991).

У низших позвоночных так же, как у млекопитающих, фоторецепторы определенным образом упорядочены и образуют своеобразную мозаику, обнаруживающуюся у всех животных начиная с рыб (Magz, Sperling, 1976; Подугольникова, Максимов, 1977). Некоторые аналоги центральной зоны и фовеа сетчатки млекопитающих и приматов также можно найти на самых ранних уровнях филогенеза. Так, многие виды рыб имеют одну (золотой карась) или две (гуппи) области сетчатки с

повышенной плотностью колбочек, а у некоторых подвижных морских видов (род *Segganus*), обитающих в прибрежной зоне, есть ямкообразное углубление, содержащее большое количество колбочек и напоминающее фовеа приматов (Гусельников, Логинов, 1976).

У рыб преобладание того или иного типа фоторецепторов отчетливо коррелирует с условиями освещения в среде обитания. Так, исследование сетчатки рыб в онтогенезе показало, что в процессе развития чисто колбочковая сетчатка личинок, обитающих на мелководье, сменяется у взрослых особей сетчаткой смешанного типа с преобладанием палочек (Школьник-Ярос, Бабурина, 1982).

12.1.3. Строение фоторецептора

Фоторецептор (как палочка, так и колбочка) состоит из связанных между собой наружного и внутреннего сегментов, тела клетки и синаптического окончания («аксона») фоторецептора (рис. 12.2).

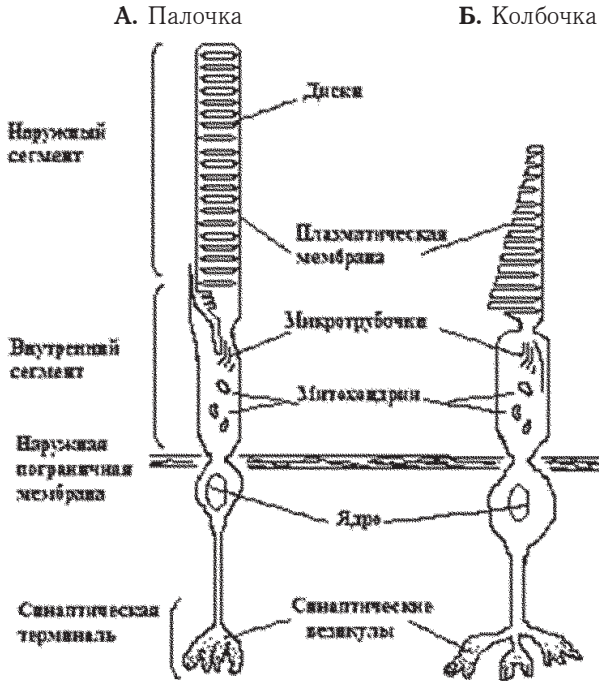


Рис. 12.2. Строение фоторецепторов. Схематическое изображение палочки (А), колбочки (Б).

Наружный сегмент фоторецептора имеет колбочковую или палочковую форму и заполнен плотно упакованными (расстояние между дисками около 28 нм) мембранными дисками, содержащими зрительный пигмент и другие компоненты фототрансдукции. У всех позвоночных животных плотность молекул зрительного пигмента в мембране диска очень велика — около 25000 молекул на 1 квадратный микрон, что соответствует концентрации пигмента около 3,5 мМ (Nagosi, 1975). Высокая концентрация пигмента в дисках и плотная упаковка самих дисков обеспечивают большую вероятность захвата фотона.

Процесс формирования дисков, заполняющих наружный сегмент, у палочек и колбочек неодинаков. Складки — впячивания клеточной мембраны палочек — отделяются в виде свободных дисков от наружной мембраны, сохраняя с нею связь только у начала наружного сегмента. Таким образом, диски со встроенными молекулами зрительного пигмента оказываются у палочек изолированными от внеклеточного пространства, тогда как диски колбочек имеют непосредственный контакт с экстраклеточной средой, обеспечивающий, видимо, более быстрое проникновение веществ как из клетки, так и в клетку.

Внутренний сегмент фоторецептора содержит эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи и множество митохондрий, расположенных в области, прилегающей к наружному сегменту, и обеспечивающих, видимо, энергетические потребности фототрансдукции. Несколько узких микротрубочек соединяют наружный и внутренний сегменты фоторецептора. Полагают, что они обеспечивают транспортировку высокомолекулярных белковых молекул и участвуют в формировании новых дисков.

Стопки дисков, содержащих молекулы пигмента, постоянно обновляются (Young, 1971; Steinberg e.a., 1977). Старые диски смещаются к верхушке наружного сегмента, отрываются и поглощаются (фагоцитоз) отростками пигментного эпителия, окружающими наружные сегменты фоторецепторов. В это же время в основании наружного сегмента добавляются новые диски, возникающие в области, расположенной во внутреннем сегменте у основания ресничек (Steinberg e.a., 1980). Фагоцитоз наружных сегментов преобладает у палочек в светлое, а у колбочек — в темное время суток (Young, 1971; Steinberg e.a., 1977).

От тела клетки отходит «аксон» фоторецептора, образующий специфические синаптические терминали, контактирующие с последующими клетками. У колбочек это так называемые колбочковые ножки — большое коническое (диаметр основания до 8-10 мкм) утолще-

ние аксона, а у палочек — сферулы — небольшое (диаметр 3-5 мкм) округлое расширение аксона. Аксональные терминали фоторецепторных клеток содержат большое количество синаптических везикул и образуют различные типы контактов как с соседними фоторецепторами, так и со вторичными нейронами сетчатки — биполярными и горизонтальными клетками.

Синаптические терминали фоторецепторов образуют два типа контактов с вторичными нейронами: ленточные, или инвагинированные, и базальные, или плоские.

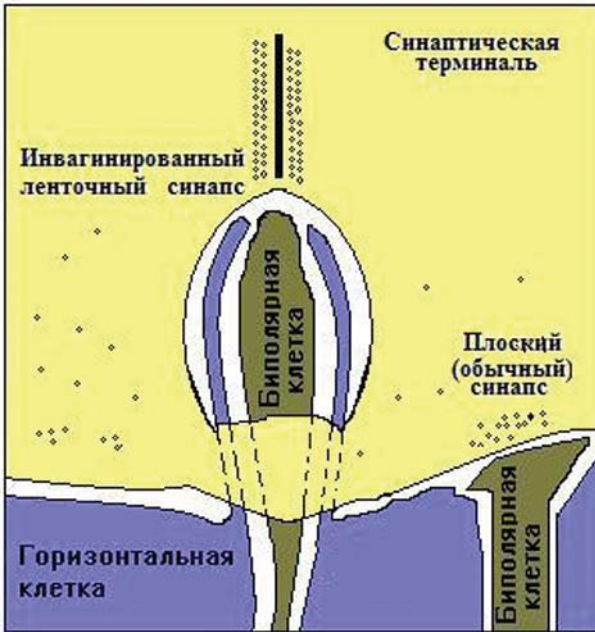


Рис. 12.3. Схематическое трехмерное изображение инвагинированного ленточного синапса (по: Sjostrand, 1976).

В контактах первого типа (рис. 12.3) дендрит биполярной клетки расположен в инвагинации синаптической терминали фоторецептора напротив ленточного синапса, характеризующегося большим числом синаптических везикул, расположенных с обеих сторон лентообразного уплотнения (Dowling, Boycott, 1966; Kolb, 1970; Lasansky, 1971; Saito e.a., 1985). Часто постсинаптическими элементами ленточного синапса являются также два отростка горизонтальных клеток, входящие в ин-

вагинацию мембраны синаптической терминали фоторецептора и формирующие так называемую триаду. Центральный элемент триады образован дендритным отростком биполярной клетки, а два латеральных элемента представлены отростками горизонтальных клеток. Плоские контакты, образованные синаптическими терминалями фоторецептора, представляют собой обычные синапсы с узкой либо с широкой синаптической щелью.

Контакты обоих типов выявлены в синапсах фоторецепторов как с биполярными, так и с горизонтальными клетками. Однако у каждой отдельно взятой биполярной клетки представлен только один тип контактов — либо инвагинированные, либо плоские.

В сетчатке млекопитающих обнаружено различие между палочками и колбочками по типу контакта с биполярными клетками. У этих животных между палочками и палочковыми биполярными клетками обнаружены только контакты инвагинированного типа, тогда как между колбочками и колбочковыми биполярными клетками выявлены как инвагинированные, так и базальные контакты (Dowling, Boycott, 1966; Kolb, 1970). У низших позвоночных такой закономерности не обнаружено: в сетчатке амфибий (Lasansky, 1971) и рыб (Saito e.a., 1985) палочки и колбочки образуют с биполярными клетками как инвагинированные, так и базальные контакты.

Фоторецепторы связаны друг с другом через телодендрии — отростки, идущие от боковой или базальной части колбочковой ножки к ножкам соседних колбочек либо к сферам палочек (Cajal, 1892; Raviola, Gilula, 1973; Raviola, Gilula, 1975; Schwartz, 1976; Ahnelt e.a., 1990).

Контакты, образуемые телодендриями с соседними фоторецепторами, представляют собой как обычные химические (Lasansky, 1971; Kolb, Jones, 1985), так и электрические синапсы (gap junction) (Raviola, Gilula, 1975; Nelson, 1977; Ahnelt e.a., 1990). Данные о зависимости межрецепторных связей через электрические синапсы от типа или спектральных характеристик фоторецепторов противоречивы. Так, было показано, что в сетчатке черепах связи между фоторецепторами упорядочены таким образом, что палочки контактируют только с палочками, а колбочки избирательно связаны с колбочками той же спектральной чувствительности (Detwiler, Hodgkin, 1979). Таким образом, фоторецепторы оказываются объединенными в два электрических синцития с различными пространственными характеристиками (Schwartz, 1976; Detwiler, Hodgkin, 1979). Однако в сетчатке всех исследованных животных: чере-

пах (Schwartz, 1976), кошек (Nelson, 1977) и приматов (Raviola, Gilula, 1975; Ahnelt e.a., 1990) — были обнаружены связи как между колбочками с различной спектральной чувствительностью, так и между колбочками и палочками. В сетчатке приматов и человека на сферуле одной палочки выявлено 3-5 электрических контакта с телодендриями соседних колбочек, а на ножке одной зелено- или красночувствительной колбочки обнаружено не менее 10 контактов с телодендриями соседних палочек. Синечувствительные колбочки не имеют столь многочисленных электрических контактов с телодендриями соседних палочек либо колбочек и являются в некоторой степени изолированными от остальных фоторецепторов (Ahnelt e.a., 1990).

Благодаря электрическим контактам, между палочками и колбочками световая активация палочек вызывает аналогичную активацию в соседних колбочках (макаки) (Schneeweis, Schnapf, 1995) и наоборот, в палочках, электрически связанных с колбочками (10-29% палочек), возникает ответ на освещение колбочки (саламандра) (Wu, Yang, 1988).

Полагают, что электрические контакты между палочками и колбочками обеспечивают передачу палочкового сигнала через колбочковые пути в условиях скотопической и мезопической адаптации (Demb, Pugh, 2002).

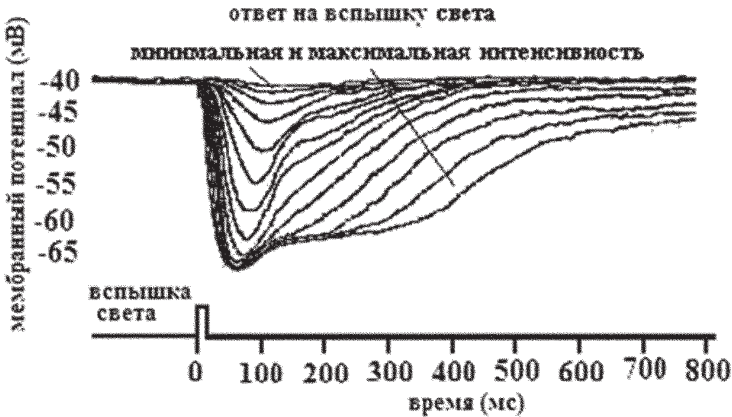


Рис. 12.4. Внутриклеточная запись реакции фоторецептора (колбочки) на вспышку света переменной интенсивности. При больших интенсивностях света амплитуда ответа достигает насыщения (около -65 мВ) (по Schnapf, Baylor, 1987).

Кроме того, электрические контакты между колбочками с различной спектральной чувствительностью хотя и снижают способность к цветоразличению (Hornstein e.a., 2004), но улучшают соотношения сигнал/шум (DeVries e.a., 2002) и увеличивают яркостную чувствительность (Hornstein e.a., 2004). Полагают, что электрические связи между фоторецепторами являются одним из факторов, обеспечивающих высокую разрешающую способность зрительной системы в условиях фотопической адаптации (Gogan e.a., 2005).

12.2. Физиология фоторецепторов

12.2.1. Реакция фоторецептора на свет. Молекулярные механизмы

12.2.1.1. Общая характеристика фоторецепторных реакций на свет и механизмов их генерации

Внутриклеточные исследования реакций фоторецепторов на свет показали, что в темноте мембранный потенциал фоторецепторной клетки очень мал — около -30 мВ. Вспышка света вызывает гиперполяризацию, сопровождающуюся уменьшением проводимости мембраны (рис. 12.4). Амплитуда гиперполяризации, вызванной светом, увеличивается в течение 50–100 мс и, достигнув максимальной величины (до -60 — -65 мВ), начинает уменьшаться, возвращая мембранный потенциал к темновому уровню.

Амплитудно-временные характеристики реакции фоторецептора на свет зависят от физических параметров светового стимула. Так, при увеличении интенсивности (или диаметра) светового пятна, освещающего фоторецептор, амплитуда светового ответа возрастает до уровня насыщения, то есть, достигнув максимальной величины, амплитуда перестает увеличиваться, несмотря на усиление светового воздействия. Изменения амплитуды сопровождаются уменьшением времени достижения максимума ответа и увеличением времени возвращения мембранного потенциала к темновому уровню.

У палочек и колбочек амплитудно-временные характеристики реакций на свет неодинаковы. Так, у палочек, обладающих высокой световой чувствительностью, гиперполяризация, сопоставимая по амплитуде с ответом колбочек, возникает при меньших интенсивностях света. Однако время достижения максимума гиперполяризационного ответа и время возвращения мембранного потенциала к темновому уровню у колбочек меньше, чем у палочек.

Таким образом, максимальной величине светового ответа фоторецептора соответствует мембранный потенциал нормального нейрона в состоянии покоя. В темноте наоборот — фоторецептор деполяризован так же, как другие нейроны во время активации и, следовательно, выделяет медиатор (Trifonov, 1968). Медиатором в фоторецепторах позвоночных животных является глутамат (Copenhagen, Jahrg, 1989).

В настоящее время известно, что деполяризация фоторецептора, регистрируемая в темноте, обусловлена катионами, постоянно входящими в наружный сегмент фоторецептора. Этот вход катионов (натрия и кальция) (так называемый «темновой ток») осуществляется через каналы, управляемые циклическими нуклеотидами (в данном случае циклическим гуанозин-монофосфатом (цГМФ-чувствительные каналы), расположенные на мембране наружного сегмента фоторецептора (Fesenko e.a., 1985). Свет уменьшает число открытых каналов, управляемых цГМФ, и, следовательно, снижает вход в клетку катионов, обеспечивая, таким образом, гиперполяризацию мембраны фоторецептора.

Постоянный вход в клетку натрия и кальция через открытые в темноте цГМФ-управляемые каналы приводит к росту внутриклеточной концентрации этих катионов. Избыток внутриклеточного Na^+ постоянно удаляет из клетки Na-K АТФ-аза внутреннего сегмента, а избыток кальция выводится из клетки $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}\text{-K}^+$ белком — обменником (NCKX — Na/Ca,K exchanger), представленным почти исключительно на мембране наружного сегмента фоторецептора (Krizaj, Copenhagen, 1998). Вывод кальция из клетки является электрогенным процессом и приводит к возникновению дополнительного входного тока катионов через мембрану фоторецептора (Yau, Nakatani, 1984), поскольку выход из клетки одного катиона Ca^{2+} и одного катиона K^+ сопровождается входом четырех катионов Na^+ (Cervetto e.a., 1989).

Регуляция концентрации кальция в наружном и во внутреннем сегментах фоторецептора осуществляется через разные механизмы. Так, на мембране внутреннего сегмента палочек не обнаружен $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}\text{-K}^+$ обменник, но выявлена $\text{Ca}^{2+}\text{-ATP}$ -аза, обеспечивающая удаление избытка внутриклеточного кальция в этой части клетки, но отсутствующая в наружном сегменте фоторецептора (Krizaj, Copenhagen, 1998).

Сведения о содержании и изменении кальция в колбочках малочисленны. Однако данные, полученные на сетчатке саламандры, свидетельствуют о том, что концентрация кальция в колбочках меньше,

чем в палочках этого животного, но переход к световой адаптации вызывает в колбочках большее изменение внутриклеточного кальция, чем в палочках (Samrath e.a., 1999).

Освещение фоторецептора не только угнетает вход катионов в клетку через цГМФ-управляемые каналы, но и вызывает снижение внутриклеточной концентрации кальция. Это происходит потому, что $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -К⁺ обменник, нечувствительный к свету (Yau, Nakatani, 1985), продолжает удалять кальций из клетки, несмотря на вызванное светом прекращение входного тока этого катиона.

Светозависимые изменения внутриклеточной концентрации кальция играют решающую роль в процессах световой адаптации, поскольку эти катионы модулируют фототрансдукцию на разных этапах

12.2.1.2. Понятие фототрансдукции

Фототрансдукция — это последовательность событий, приводящих к изменению трансмембранных токов наружного сегмента фоторецептора, она начинается с попадания света на молекулу зрительного пигмента. При захвате фотона молекула родопсина (R) становится энзиматически активной (R*) (приобретает активность фермента) и вызывает переход G-белка трансдукцина в активную форму (G*). Трансдукцин, в свою очередь, активирует фосфодиэстеразу (phosphodiesterase — PDE). Активная фосфодиэстераза (PDE*) вызывает гидролиз цГМФ, что приводит к снижению концентрации этого внутриклеточного медиатора и, как следствие, к закрытию сГМФ-управляемых каналов и прекращению входа катионов в клетку. В результате этого мембранный потенциал становится более негативным, чем в темноте, то есть возникает «гиперполяризация» мембраны.

12.2.1.3. Активация зрительного пигмента

Зрительные пигменты (родопсин и пигменты колбочек) относятся к суперсемейству рецепторов, связанных с G-белками (Sakmar, 1998). Как все рецепторы этого типа, пигменты состоят из внеклеточного, внутриклеточного и семи трансмембранных доменов (H1-H7) (рис. 12.5). В отличие от других рецепторов, связанных с G-белками, зрительные пигменты состоят из собственно белка — опсина и хромофора. В зрительных пигментах большинства позвоночных, включая млекопитающих, хромофором является 11-цис-ретиналь (A1), а у водных животных — 11-цис-3,4-дигидроретиналь (A2). (Dartnall, Lythgoe, 1965).

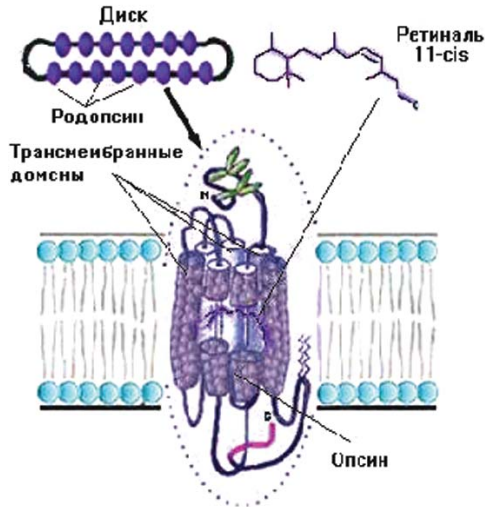


Рис. 12.5. Схематическое изображение молекулы родопсина, расположенного в мембране диска (по Nagrave, 1995).

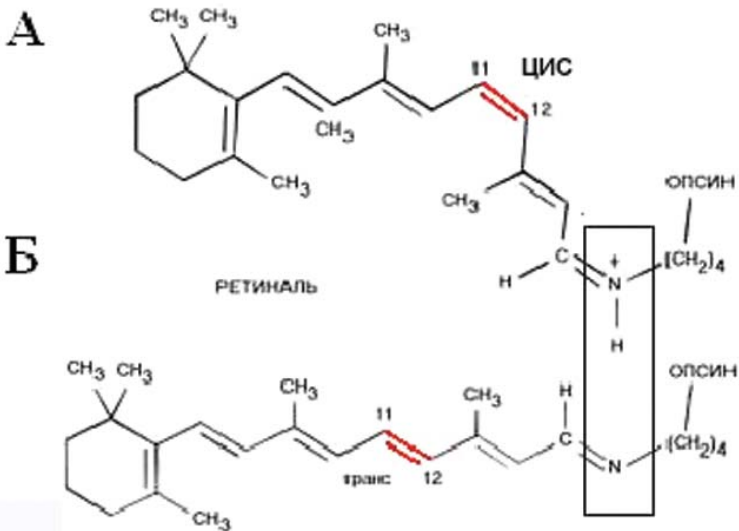


Рис. 12.6. Структурная формула ретиналя, связанного с опсином. А — в темноте цис-форма ретиналя связана с опсином через протонированное Шифово основание. Б — транс-форма ретиналя после изомеризации, вызванной светом. Шифово основание выделено прямоугольником.

Хромофор (ретиаль) ковалентно связан с опсином через протонированное Шифово основание (рис. 12.6). Наличие протонированной формы опсина в зрительных пигментах позвоночных животных обеспечивает чувствительность рецептора в средневолновой области спектра. Это связано с тем, что свободный ретиаль либо ретиаль, связанный с опсином в непротонированной форме, имеет максимум поглощения в ультрафиолетовом диапазоне ($\lambda=380$ нм). Протонизация Шифова основания сдвигает чувствительность пигмента в средневолновый диапазон. Стабилизацию пигмента с протонированным Шифовым основанием, имеющим позитивный заряд, обеспечивает отрицательно заряженный остаток карбоксильной кислоты, расположенный в третьем трансмембранном сегменте и выступающий в качестве первичного контриона (антииона) (Zhukovsky, Orrian, 1989).

В темноте 11-цис-ретиаль (хромофор) выполняет функцию сильного антагониста, определяя инактивированное состояние родопсина.

Родопсин имеет крайне низкий уровень спонтанной активности — около 0,031 молекулы/с. Расчеты показывают, что при общем числе молекул 2×10^9 время ожидания спонтанной изомеризации одной конкретной молекулы составляет около 2000 лет. Высокая стабильность молекулы родопсина обеспечивает незначительный уровень шума при высокой концентрации этого пигмента в дисках палочек (Ratto e.a., 1979).

Захват фотона 11-цис-ретиалем приводит к изомеризации ретинида из цис-формы в полностью транс-форму (рис. 12.6, Б). Эта изомеризация является единственным светозависимым событием (Wald, 1968). За несколько миллисекунд лиганд из сильного антагониста превращается в сильного агониста, а родопсин ($\lambda=500$ нм) (через ряд промежуточных производных с различными спектральными характеристиками — батородопсин, люмиродопсин, метародопсин I — Meta I) превращается в метародопсин II (Meta II). Meta II является активной формой родопсина (R^*), характеризуется депротонированным Шифовым основанием и спектральной чувствительностью в коротковолновой области ($\lambda=380$ нм) (Menon e.a., 2001).

В свою очередь, метародопсин II превращается в неактивную форму — метародопсин III (Meta III). (Okada e.a., 2001). Переход активной формы колбочкового пигмента в неактивную (Meta II в Meta III) происходит в 50 раз быстрее, чем у родопсина (Imai e.a., 1997).

В основе активации родопсина лежит механизм «включения контриона», заключающийся в передаче протонов отрицательно заряженному первичному контриону. В результате такого перераспределения заряда, происходящего на стадии люмиродопсина, положение первичного контриона, стабилизирующего позитивный заряд протонированного Шифова основания, изменяется (Yan e.a., 2003).

12.2.1.4. Инактивация зрительного пигмента происходит в два этапа: 1) фосфорилирование пигмента, приводящее к снижению активности, 2) связывание фосфорилированного, но еще активного зрительного пигмента с белком аррестином, приводящее к подавлению остаточной активности (Kuhn, Wilden, 1987).

Необходимый уровень инактивации родопсина достигается фосфорилированием нескольких сайтов С-терминали (Mendez e.a., 2000), каждый из которых обеспечивает свой, независимый от других сайтов уровень инактивации пигмента. Предполагается, что множественное фосфорилирование может обеспечивать возможность регуляция времени жизни активированной молекулы родопсина (Doan e.a., 2006).

Фосфориллирование колбочкового пигмента также является необходимым этапом его инактивации. Так, предотвращение фосфорилирования пигмента красных колбочек человека (с помощью точечных мутаций во всех сайтах фосфорилирования) приводит к значительному удлинению светового ответа фоторецептора (Kefalov e.a., 2003).

Фосфорилирование зрительных пигментов осуществляется киназами рецепторов, связанных с G-белками (G-protein Receptor Kinase — GRK). Родопсин киназа (GRK1) и так называемая «киназа колбочкового пигмента» (GRK7) фосфорилируют родопсин и зрительный пигмент колбочек, соответственно. Интересно, что у грызунов (мыши, крысы) один тип киназы (GRK1) представлен как в палочках, так и в колбочках (Lyubarsky e.a., 2000), тогда как у многих видов, включая человека, колбочки содержат два типа киназ (GRK7 и GRK1) (Weisse.a., 2001).

Активность (Tachibanaki e.a., 2005) и концентрация (Wada e.a., 2006) протеин-киназ, обеспечивающих фосфорилирование зрительного пигмента, в колбочках значительно выше, чем в палочках. Полагают, что эти различия могут обуславливать более низкую чувствительность и более быстрое, по сравнению с палочками, выключение колбочек.

Активность киназ-рецепторов, связанных с G-белками (GRK) и осуществляющих фосфорилирование активированных зрительных пигментов, регулируют низкомолекулярные белки, связывающие кальций и, в частности, рековерин (Rec) (Chen e.a., 1995; Klenchin e.a., 1995). Будучи связанными с кальцием, эти белки угнетают активность киназ. Предполагается, что в темноте, когда внутриклеточная концентрация свободного кальция достаточно велика, связанный с кальцием рековерин подавляет активность родопсин-киназы, предотвращая или угнетая, таким образом, фосфорилирование активированного родопсина (R*). Снижение внутриклеточной концентрации кальция, обусловленное светом, вызывает диссоциацию рековерина и кальция. Свободный от кальция рековерин не оказывает угнетающего влияния на родопсин-киназу, что приводит к началу либо усилению фосфорилирования активно-го родопсина.

Полагают, что в условиях темновой адаптации, когда концентрация внутриклеточного кальция достаточно велика, рековерин усиливает фоточувствительность палочек за счет удлинения времени жизни активированного (фотолизованного) родопсина, поскольку этот белок, в связанной с кальцием форме угнетающий родопсин-киназу, замедляет инактивацию пигмента. Свет, вызывая снижение уровня внутриклеточного кальция, приводит к преобладанию рековерина в форме, свободной от кальция, что ускоряет восстановление пигмента за счет более быстрого фосфорилирования и инактивации родопсина (Hurley, 1995).

Вторая стадия инактивации зрительных пигментов заключается в связывании малоактивного фосфорилированного пигмента с аррестином.

Пигмент, связанный с аррестином, выводится из каскада фототрансдукции. В обработавшем пигменте хромофор отделяется от белка и поглощается пигментным эпителием. Каскад реакций (зрительный цикл), происходящих в клетках пигментного эпителия, преобразует хромофор из полностью *trans*-формы в полностью *cis*-форму. (McVee e.a., 2001).

В палочках выявлены две формы аррестина (p48 — полномерная — длинная и p44 — укороченная), возникающие в результате альтернативного сплайсинга и отличающиеся длиной C-конца (Smith e.a., 1994). Обе формы взаимодействуют с фосфорилированным родопсином, но длинная форма аррестина (p48) способна уменьшать активность пигмента, связываясь с активированным родопсином без предварительного фосфорилирования родопсин-киназой (Burns e.a., 2006).

Локализация аррестина в фоторецепторе зависит, как и у некоторых других белков, участвующих в фототрансдукции (Whelan, McGinnis, 1988; Elias e.a., 2004), от адаптации. Интересно, что в светозависимом перераспределении аррестина в фоторецепторе основная роль принадлежит, видимо, длинной форме этого белка (p48), покидающей наружный сегмент палочки при темновой адаптации (Mangini, Pepperberg, 1988).

12.2.1.5. Трансдукцин

Молекула активированного зрительного пигмента, как и другие рецепторы, связанные с G-белками, взаимодействует с определенным типом G-белка. Таким белком для зрительных пигментов является трансдукцин. Подобно другим G-белкам, трансдукцин состоит из трех глобулярных субъединиц — $G\alpha$, $G\beta$, $G\gamma$ и является, таким образом, гетеротримером. Альфа-субъединица G-белка имеет сайт, взаимодействующий с рецептором, и сайт, связанный с гуанозин-дифосфатом (ГДФ — GDP) либо с гуанозин-трифосфатом (ГТФ — GTP) у не активированного и, соответственно, у активированного G-белка. Замену ГДФ на ГТФ вызывает активация рецептора (в данном случае зрительного пигмента), связанного с G-белком (рис. 12.7).

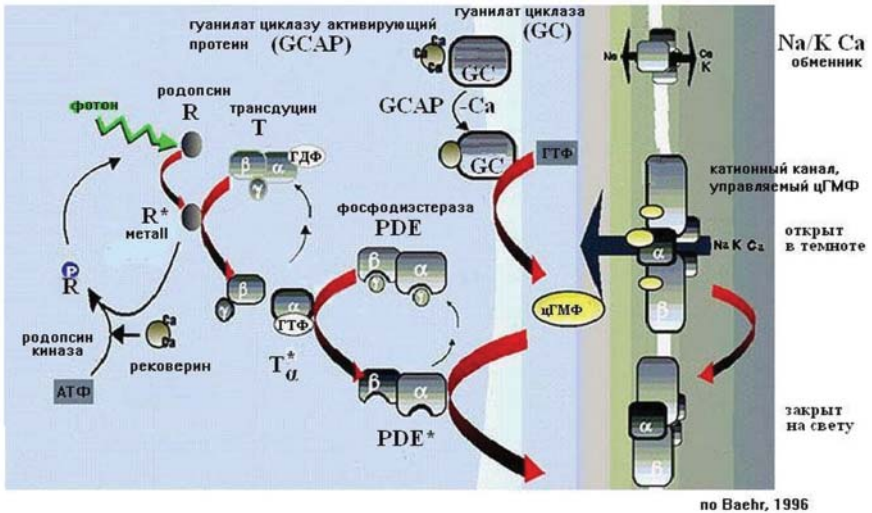


Рис. 12.7. Активация светом родопсина. Последовательность реакций, возникающих при активации (красные стрелки) и при инактивации (черные стрелки) каскада фототрансдукции (по Baehr, 1996).

Взаимодействие с трансдуцином молекулы зрительного пигмента, активированной при поглощении фотона, вызывает замену ГДФ, связанного с альфа-субъединицей, на ГТФ. Альфа-субъединица вместе с ГТФ ($T\alpha$ -GTP) отделяется как от двух других субъединиц G-белка ($G\beta\gamma$), так и от активированной молекулы зрительного пигмента (R^*) и является активной формой трансдуцина ($T^* = T\alpha$ -GTP = $T\alpha^*$), передающей сигнал следующему внутриклеточному посреднику — фосфодиэстеразе циклического гуанозин-монофосфата (фосфодиэстераза цГМФ = cGMP PDE = PDE).

Освободившаяся молекула активного зрительного пигмента способна активировать новые молекулы трансдуцина, обеспечивая, таким образом, усиление передаваемого сигнала. По данным разных исследований, одна молекула активного зрительного пигмента способна активировать 20-100 молекул трансдуцина (подробнее в обзорах Fain e.a., 2001; Fu, Yau 2007).

Активность трансдуцина, взаимодействующего с фосфодиэстеразой, прекращается тогда, когда связанный с альфа-субъединицей трансдуцина ГТФ гидролизует до ГДФ. Сам трансдуцин имеет слабую ГТФ-азную активность, но ее значительно увеличивают белки, активирующие ГТФ-азную активность (GTPase activating protein — GAP). Среди этих белков основным является белок, относящийся к семейству «регуляторов сигнальных G-белков» (regulator of G-protein-signaling — RGS) (He e.a., 1998), образующий комплекс с двумя другими белками (Makino e.a., 1999), один из которых связывает комплекс с мембраной (Hu, Wensel, 2002). Активацию этого белкового комплекса вызывают, в частности, некаталитические α -субъединицы фосфодиэстеразы цГМФ после ее взаимодействия с трансдуцином (Angleton, Wensel, 1994).

Трансдуцин в палочках отличается от трансдуцина в колбочках способностью к перемещению из наружного сегмента фоторецептора во внутренний при переходе от темновой адаптации к яркому свету (Brann, Cohen, 1987).

Механизм светозависимого перераспределения трансдуцина в палочках не известен, но обусловлен, видимо, особенностями изоформ субъединиц трансдуцина, представленных в колбочках ($G\alpha 2G\beta 3\gamma 8$) и в палочках ($G\alpha 1G\beta 1\gamma 1$) (Lerea e.a., 1986), отличающихся, в частности, набором жирных кислот, обеспечивающих связь с мембраной диска. Полагают, что относительная непрочность этой связи у изоформ субъединиц трансдуцина в палочках определяет возможность перемещения белка (Kassai e.a., 2005).

Недавние исследования показали, что перераспределение трансдуцина в палочках зависит от способности комплекса белков, активирующих ГТФ-азную активность трансдуцина, обеспечить инактивацию связанного с ГТФ трансдуцина. Полагают, что, когда клетка не способна инактивировать весь трансдуцин, связанный с ГТФ, оставшаяся часть активного трансдуцина может отделиться от мембраны и выйти из наружного сегмента (Lobanova e.a., 2007; см. обзор Calvert e.a., 2006).

Перераспределение трансдуцина рассматривается как возможный механизм, обеспечивающий выключение высокочувствительных палочек при переходе к колбочковому зрению в условиях больших интенсивностей света (Sokolov e.a., 2002; Elias e.a., 2004; Calvert e.a., 2006; Lobanova e.a., 2007).

12.2.1.6. Фосфодиэстераза α ГМФ (cGMP PDE)

Третьим компонентом фототрансдукции является фосфодиэстераза α ГМФ, активируемая при взаимодействии с активным трансдуцином. Фосфодиэстераза α ГМФ состоит из двух каталитических субъединиц α и β и двух одинаковых γ -субъединиц (Baehr e.a., 1979; Hurley, Stryer, 1982). В темноте гамма-субъединицы блокируют активность каталитических единиц, предотвращая гидролиз α ГМФ. На свету с каждой гамма-субъединицей фосфодиэстеразы взаимодействует альфа-субъединица трансдуцина, связанная с ГТФ. В результате этого взаимодействия происходит смещение некаталитических γ -субъединиц, приводящее к разблокированию каталитических α - и β -субъединиц фосфодиэстеразы (Catty e.a., 1992). Активированная фосфодиэстераза α ГМФ (PDE*) обладает высокой каталитической активностью и осуществляет гидролиз cГМФ с предельно высокой скоростью (сопоставимой со скоростью диффузии воды) — около 2000 мол/с (Leskov e.a., 2000). Благодаря такой высокой активности фосфодиэстеразы, усиление передаваемого сигнала происходит и на этом этапе фототрансдукции, несмотря на то что для активации одной молекулы фермента необходимо две молекулы активированного трансдуцина.

Следует отметить, что усиление сигнала происходит при количественном уменьшении каждого последующего компонента фототрансдукции. Количественно три основных компонента фототрансдукции — родопсин, трансдуцин, фосфодиэстераза — соотносятся как 100:10:1.

12.2.1.7. Каналы, управляемые цГМФ

Гидролиз цГМФ, вызываемый фосфодиэстеразой, снижает концентрацию цГМФ внутри клетки и приводит к закрыванию каналов, управляемых цГМФ. В темноте фоновая концентрация (несколько мкМ) цГМФ обеспечивает открытое состояние у небольшого процента каналов. Включение света снижает концентрацию цГМФ и приводит к быстрому закрыванию каналов с субмиллисекундной задержкой (Карпен е.а., 1998). Эффективность взаимодействия цГМФ с каналом увеличивается при снижении концентрации Ca^{2+} в клетке (Nakatani е.а., 1995).

Каналы, управляемые цГМФ, относятся к семейству неспецифических катионных каналов, управляемых циклическими нуклеотидами (cyclicnucleotide-gated — CNG— channels) (Каурп, Seifert, 2002). Они расположены на плазматической мембране наружного сегмента фоторецептора и являются последним компонентом фототрансдукции. Каналы, управляемые циклическими нуклеотидами, состоят из четырех субъединиц, относящихся к двум различным типам А (или α) и В (или β) (CNGA и CNGB = CNG α и CNG β). Субъединицы А-типа способны к формированию гомомерного функционального канала, тогда как субъединицы В-типа образуют канал только при одновременной экспрессии с субъединицами А-типа. Субъединицы обоих типов имеют изоформы (Каурп, Seifert, 2002).

В цГМФ-управляемых каналах палочек и колбочек соотношение субъединиц А- и В-типов неодинаково, при этом однотипные субъединицы представлены различными изоформами. Композиционный состав каналов у палочек 3CNGA1:1CNGB1 (Zhong е.а., 2002), а у колбочек — 2CNGA3:2CNGB3 (Peng е.а., 2004). Мутации, приводящие к изменению CNGA1 субъединицы в палочках человека, вызывают пигментозный ретинит (Друја е.а., 1995), а мутационные изменения у CNGA3 либо CNGB3 субъединиц в колбочках приводят к ахроматопсии (Kohl е.а., 1998; Kohl е.а., 2000).

Закрывание цГМФ-управляемых каналов, вызванное снижением внутриклеточной концентрации цГМФ, заканчивается в результате прекращения каталитической активности фосфодиэстеразы цГМФ.

12.2.1.8. Инактивация фосфодиэстеразы

Происходит тогда, когда с участием белков, активирующих ГТФ-азную активность трансдуцина, ГТФ, связанный с альфа-субъединицей трансдуцина, гидролизуетсЯ до ГДФ. В результате этого G-белок переходит в неактивную форму: альфа-субъединицы трансдуцина от-

деляются от γ -субъединиц фосфодиэстеразы и формируют исходный гетеротример, воссоединяясь с $\beta\gamma$ -субъединицами трансдуцина. Гамма-субъединицы фосфодиэстеразы, в свою очередь, восстанавливают ингибирующие влияния на α - и β - каталитические субъединицы, инактивируя, таким образом, фосфодиэстеразу цГМФ.

Мало что известно о факторах, активирующих белки, усиливающие ГТФ-азную активность трансдуцина. Есть данные о том, что одним из таких факторов являются некаталитические (γ -субъединицы) фосфодиэстеразы (Angleton, Wensel, 1994). Однако данные более поздних исследований свидетельствуют о том, что γ -субъединицы фосфодиэстеразы способны усиливать ГТФ-азной активности трансдуцина без участия белков GAP комплекса (Tsang e.a., 2006).

Инактивация фосфодиэстеразы предотвращает дальнейшее снижение уровня цГМФ в клетке, но не предполагает восстановление концентрации этого вещества до темнового уровня.

12.2.1.9. Восстановление концентрации цГМФ обеспечивают гуанилат-циклазы (GC), присутствующие как в палочках, так и в колбочках. В фоторецепторах выявлены два типа циклаз — GC1 (GC-E) и GC2 (GC-F). Циклазы обоих типов могут быть в одной клетке, однако GC-1, доминирующая в колбочках, выявлена и в палочках, а GC2 — только в палочках (Shyjan e.a., 1992; Lowe e.a., 1995).

Особенностью циклаз, представленных в фоторецепторах, является их зависимость от концентрации катионов кальция внутри клетки, проявляющаяся в увеличении активности фермента при снижении уровня внутриклеточного кальция (Lolley, Racz, 1982; Koch, Stryer, 1988).

В настоящее время известно, что активность гуанилат-циклаз в фоторецепторах регулируют низкомолекулярные белки, относящиеся к семейству кальций-связывающих белков, включающему кальмодулин. Эти белки, активирующие гуанилат циклазу, получили название GCAP (GCAPs — guanylyl-cyclase activating proteins).

В сетчатке млекопитающих выявлены два типа таких белков — GCAP1 и GCAP2. Данные, полученные на ноккаутных животных, свидетельствуют об одинаковой эффективности GCAP2 для активации обоих типов гуанилат-циклаз — GC1 и GC2, тогда как GCAP1 активирует преимущественно GC1 (Mendez e.a., 2001). Экспрессия GCAP1 и GCAP2 в палочках и колбочках не одинакова, но соответствует типу циклаз, представленных в фоторецепторе. Так, в палочках, имеющих оба типа циклаз (GC1 и GC2), выявлены оба типа белков (GCAP1 и GCAP2), а в колбоч-

ках, содержащих преимущественно один тип циклазы (GC1), преобладает один тип белка (GCAP1) (Cuenca e.a., 1998; Kachi e.a., 1999).

В темноте относительно высокая концентрация кальция обеспечивает существование GCAP в Ca^{2+} -связанной форме. Отделение кальция от GCAP при уменьшении концентрации этого катиона (во время ответа на свет) позволяет белку активировать гуанилат-циклазу (Mendez e.a., 2001). Активация гуанилат-циклазы, обусловленная изменением концентрации внутриклеточного кальция и вызываемая GCAP, возникает раньше (в течение 40мс), чем начинается фосфорилирование пигмента (через 80-100 мс после вспышки света) (Burns e.a., 2002). Полагают, что такая быстрота обратной связи, регулирующей гуанилат-циклазу, обеспечивает в фоторецепторе два эффекта: повышение чувствительности к вспышкам света при темновой адаптации и ускоренное восстановление темнового тока, обусловленного цГМФ-управляемыми каналами (Mendez e.a., 2001).

Белок, способный связывать кальций и модулировать активность гуанилат-циклазы, выявлен также в сетчатке низших позвоночных. В отличие от GCAP млекопитающих, этот белок (GCIP — guanylate-cyclase inhibitory protein) не стимулирует гуанилат-циклазу при снижении внутриклеточного кальция, но способен угнетать ее активность при повышении концентрации кальция внутри клетки. (Li e.a., 1998).

Изменения внутриклеточной концентрации кальция, вызывающие усиление либо угнетение фототрансдукции на различных этапах, свидетельствуют о несомненном участии этого катиона в обеспечении способности фоторецептора отвечать на световой стимул как в темноте, так и при различных условиях световой адаптации. При отсутствии изменений внутриклеточного кальция фоторецептор суммирует реакции, вызванные отдельными фотонами, до тех пор, пока все цГМФ-управляемые каналы не закроются, то есть до полного насыщения фоторецептора (Fain e.a., 2001).

Однако очевидно, что процесс световой адаптации фоторецептора не может определяться исключительно кальций-зависимыми механизмами. Одним из таких механизмов, не связанных с кальцием, является, видимо, модуляция гидролиза ГТФ, связанного с альфа-субъединицей трансдуцина (Woodruff e.a., 2008). Так, известно, что переход от темновой адаптации к световой вызывает, в частности, ускорение спада светового ответа как у колбочек (Soo e.a., 2008), так и у палочек (Woodruff e.a., 2008). Ускоренное восстановление фоторецептора, наблюдающееся в этих условиях, связывают с увеличением скорости

инактивации каскада фототрансдукции (Soo e.a., 2008; Woodruff e.a., 2008). Отсутствие у мышей с точечными мутациями в гамма-субъединицах фосфодиэстеразы цГМФ ускорения спада светового ответа палочки, вызываемого световым фоном, свидетельствует о том, что модуляция скорости инактивации каскада фототрансдукции может осуществляться за счет изменения активирующих влияний гамма-субъединиц фосфодиэстеразы цГМФ на ГТФ-азную активность трансдуцина (Woodruff e.a., 2008).

12.2.2. Выделение медиатора синаптическими терминалями фоторецепторов

Результатом биохимических реакций, возникающих при захвате квантов света молекулами зрительного пигмента и приводящих к изменению мембранного потенциала фоторецептора, является передача сигнала последующим клеткам сетчатки с помощью медиатора, выделяемого синаптическими терминалями.

Везикулярное выделение медиатора в синапсах, образованных обычными нейронами, начинается с локального повышения концентрации внутриклеточного кальция, обусловленного входом этого катиона в синаптическую терминаль при ее деполяризации во время генерации потенциала действия. Фоторецепторы, с одной стороны, не генерируют спайк, то есть лишены такого механизма роста внутриклеточного кальция, а с другой стороны, они обладают ленточными синапсами, нуждающимися в кальции значительно больше, чем синапсы обычные. Повышенная «потребность» в кальции усугубляется еще и постоянным выделением медиатора в темноте (рис. 12.8).

12.2.2.1. Кальций в синаптических терминалях фоторецепторов

Решающую роль в обеспечении необходимой концентрации кальция в синаптической терминали фоторецептора играют кальциевые каналы, выявленные, в частности, рядом с ленточными синапсами в фоторецепторах млекопитающих (Morgans, 2001). Вход кальция в синаптические терминали фоторецепторов позвоночных животных обеспечивают потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа (Corey e.a., 1984; Morgans, 2001).

Кальциевые каналы в фоторецепторах млекопитающих отличаются от аналогичных каналов низших позвоночных животных более сложной молекулярной структурой и диапазоном мембранного потенциала, вызывающего активацию канала. Так, половина от максимальной прово-

димости канала у низших позвоночных наблюдается при мембранном потенциале -13 — -31 мВ, а у млекопитающих — при -40 — -50 мВ (см. обзор Schwartz, 2002).

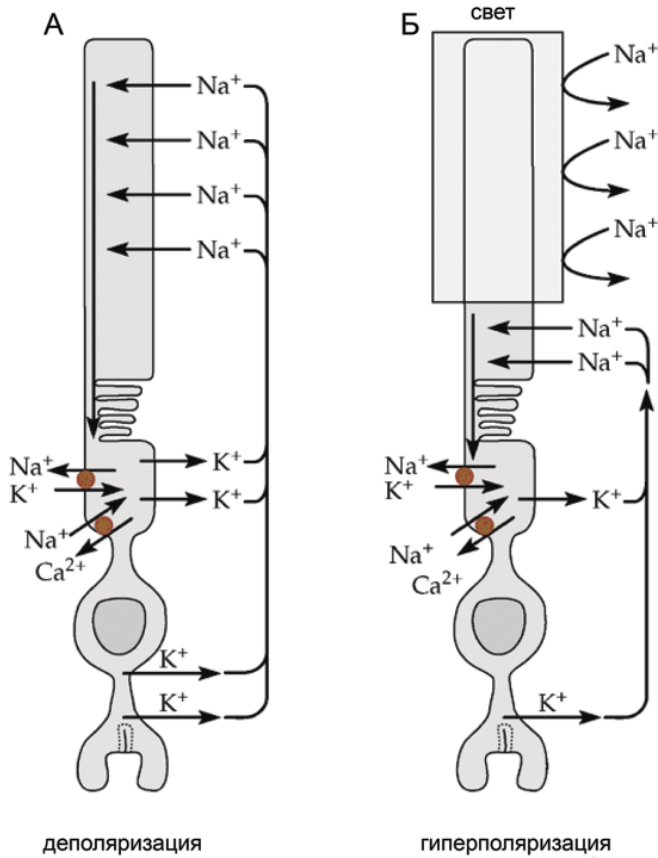


Рис. 12.8. «Темновой» ток в фоторецепторе (палочке) сетчатки позвоночных. (А) В темноте Na^+ через катионные каналы проходит в наружный сегмент палочек, вызывая деполяризацию. Петля тока проходит через перешеек палочки за счет того, что K^+ -ток течет наружу из мембраны внутреннего сегмента. (Б) При освещении наружного сегмента каналы закрываются из-за уменьшения внутриклеточной концентрации цГМФ, и палочка гиперполяризуется. Концентрации Na^+ , K^+ и Ca^{2+} поддерживаются внутри палочки специальными насосами и ионообменниками, расположенными в области внутреннего сегмента (темные кружки) (по А. В. Латанову).

В фоторецепторах низших позвоночных есть второй путь поступления кальция в клетку, отсутствующий у млекопитающих. Дополнительный вход кальция в клетку осуществляется у этих животных через локализованные на соме и синаптических терминалях фоторецепторов (Savchenko e.a., 1997) катионные каналы, управляемые цГМФ (Rieke, Schwartz, 1994). Независимость этих каналов от мембранного потенциала обеспечивает постоянный уровень внутриклеточного кальция, необходимый для выделения синаптических везикул (Schwartz, 2002).

Работу ленточного синапса обеспечивают не только кальциевые каналы, но и такие «переносчики» кальция, как натрий-кальциевый обменник (Na^+ - Ca^{2+} обменника — NCX) и кальциевая АТФ-аза (Ca^{2+} -АТФ-аза — PMCA), расположенные на мембранах синаптических терминалей фоторецепторов совместно с многочисленными рибосомами (Johnson e.a, 2007). При этом натрий-кальциевый обменник обнаружен только в синаптических терминалях колбочек, а кальциевая АТФ-аза выявлена у обоих типов фоторецепторов.

Полагают, что наличие быстрого высокочувствительного обменника в колбочках обеспечивает более высокую, по сравнению с палочками, концентрацию кальция в синаптической терминали и определяет как относительно быстрое выделение синаптических везикул терминалями колбочек (Sheng e.a., 2007), так и быструю кинетику ответа колбочек при световой адаптации (Johnson e.a, 2007).

12.2.2.2. Модуляция выделения медиатора

Уровень деполяризации синаптических терминалей, определяющий количество выделяемого медиатора, является результатом взаимодействия фототока, возникшего в наружном сегменте, с токами, обусловленными ионными каналами, локализованными на соме и/или на синаптических терминалях фоторецептора.

На синаптических терминалях фоторецепторов выявлены как каналы, управляемые мембранным потенциалом (потенциал-зависимые калиевые и натриевы каналы), так и каналы, управляемые рецепторами (глутамата и гамма-аминомасляной кислоты — ГАМК). Взаимодействуя с соответствующими рецепторами, внеклеточные глутамат (выделяемый фоторецепторами) и ГАМК (выделяемая горизонтальными клетками) способны регулировать количество медиатора, выделяемого фоторецепторными клетками.

12.2.2.3. Метаботропные рецепторы глутамата (mGluRIII)

Метаботропные рецепторы mGluRIII-типа, расположенные на синаптических терминалях фоторецепторов, являются одной из мишеней для внеклеточного глутамата.

У низших позвоночных животных метаботропные рецепторы глутамата функционально идентифицированы только на синаптических терминалях колбочек (Hirasawa e.a., 2002; Hosoi e.a., 2005). У млекопитающих рецепторы этого типа иммуногистохимическими методами выявлены в сетчатке грызунов на синаптических терминалях у обоих типов фоторецепторов (Koulen e.a., 1999; Koulen, Brandstätter, 2002), а у кошек обнаружены только на сферах палочек (Cai, Pourcho, 1999). Почти во всех синаптических терминалях палочек и у части (25%) терминалей колбочек метаботропные рецепторы глутамата (mGluR8) обнаружены рядом с ленточными синапсами (Koulen, Brandstätter, 2002).

Как у млекопитающих (Koulen e.a., 1999), так и у низших позвоночных (Hirasawa e.a., 2002; Hosoi e.a., 2005) взаимодействие этих рецепторов с глутаматом приводит к угнетению выделения медиатора фоторецепторами.

Возможны два механизма угнетения выброса медиатора опосредованного метаботропными рецепторами глутамата — за счет подавления входа кальция в клетку или за счет гиперполяризации мембраны синаптической терминали. Подавление проводимости кальциевых каналов при активация глутаматом метаботропных рецепторов mGluRIII-типа происходит путем прямого взаимодействия $\beta\gamma$ -субъединиц, связанного с рецептором G-белка, с белковыми субъединицами кальциевого канала (Takahashi et al., 1996; Dolphin, 1998; Dolphin, 2003), тогда как гиперполяризация синаптической терминали возникает за счет увеличения проводимости калиевых каналов через внутриклеточные пути, связанные с цАМФ (Cartmell, Schoepp, 2000).

Полагают, что эффект, вызываемый mGluRIII-рецепторами в фоторецепторных клетках, обусловлен, скорее всего, подавлением проводимости кальциевых каналов, поскольку угнетение выделения медиатора синаптическими терминалями фоторецептора сопровождается подавлением входного тока кальция (Koulen e.a., 1999) через кальциевые каналы L-типа (Hosoi e.a., 2005).

12.2.2.4. Переносчики (транспортёры) глутамата

Глутамат, находящийся во внеклеточной среде, способен вызывать активацию не только рецепторов глутамата, но и белков-транспортёров — переносчиков этой аминокислоты, обеспечивающих его удаление из внеклеточной среды. Перенос глутамата, осуществляемый транспортёрами, является электрогенным процессом, зависящим от внеклеточной концентрации ионов натрия и мембранного потенциала. Перенос глутамата в клетку увеличивается при деполяризации и уменьшается при гиперполяризации (Schwartz, 2002). Транспортёры, как и связанные с ними токи, нечувствительны к агонистам и антагонистам глутамата. Их блокаду вызывают дигидрокаинат (ДНКА) и DL-тео-бета-гидроксиаспартат (НА) (Eliasof, Werblin, 1993).

Активация транспортёров вызывает в фоторецепторах позвоночных (Sarantis e.a., 1988; Eliasof, Werblin, 1993; Picaud e.a., 1995; Grant, Werblin, 1996 и др.) ток хлора, обладающий характеристиками транспортёров и свойствами токов, проходящих по хлорным каналам, управляемым рецепторами (Fairman e.a., 1995).

Сопряженный с транспортёрами ток может модулировать выделение медиатора за счёт изменения мембранного потенциала синаптических терминалей фоторецептора. Так, в колбочках, имеющих в темноте мембранный потенциал более негативный, чем равновесный потенциал для ионов хлора, ток хлора, связанный с переносчиками, вызывает дополнительную деполяризацию синаптической терминали и увеличение выделения медиатора (Sarantis et al., 1988).

Благодаря высокой чувствительности (около 100 мкМ) к глутамату и слабо выраженной десенситизации (Eliasof, Werblin, 1993), переносчики глутамата способны реагировать на небольшие и длительные изменения внеклеточной концентрации медиатора.

Полагают, что переносчики глутамата, локализованные на синаптических терминалях фоторецепторов, модулируют синаптическую передачу, регулируя количество выделяемого глутамата, определяя, таким образом, концентрацию медиатора в синаптической щели и уровень мембранного потенциала вторичных нейронов (Yang, Wu, 1997; Gaal e.a., 1998).

Более того, по мнению Шварца, потенциал-зависимые транспортёры глутамата, расположенные на синаптических терминалях колбочек, обеспечивают у низших позвоночных животных не только модуляцию синаптической передачи, но и независимое от кальция несинаптичес-

кое выделение медиатора. Предполагается, что при деполяризации синаптической терминали и снижении уровня внеклеточного глутамата транспортеры могут осуществлять перенос этой аминокислоты из клетки, поскольку постоянный вход натрия в синаптическую терминаль фоторецептора через цГМФ-управляемые каналы обеспечивает внутри клетки необходимую для работы транспортеров концентрацию катионов натрия (Schwartz, 2002).

12.2.2.5. ГАМК-эргическая модуляция выделения медиатора. Выделение медиатора синаптическими терминалями фоторецепторов модулируют два типа ионотропных рецепторов ГАМК — ГАМК_А- и ГАМК_С-рецепторы. Оба типа рецепторов при взаимодействии с ГАМК увеличивают проводимость хлорных каналов, но обладают различными фармакологическими и функциональными характеристиками.

Иммуногистохимическими методами ГАМК_А- и ГАМК_С-рецепторы идентифицированы почти исключительно на синаптических терминалях колбочек как у млекопитающих (в сетчатке кроликов — Greeferath e.a., 1994; Mitchel e.a., 1999, кошек — Vardi e.a., 1992, свиней — Picaud e.a., 1998; Pattnaie.a., 2000), так и у низших позвоночных (Wang e.a., 2000). Исключением являются данные, полученные на сетчатке золотой рыбки, где ГАМК_А-рецепторы выявлены на some и синаптических терминалях как колбочек, так и палочек (Yazulla, Studholme, 1997).

В колбочках (черепях — Kaneko, Tachibana, 1986; свиней — Picaud e.a., 1998; крыс и мышей — Pattnaie.a., 2000) активация ГАМК_А-рецепторов вызывает чувствительные к бикакуллину (селективному антагонисту ГАМК_А-рецепторов) быстрые входные токи хлора с быстрой десенситизацией. Таким образом, ГАМК_А-рецепторы обеспечивают быструю и кратковременную гиперполяризацию мембраны при внезапном повышении внеклеточной концентрации ГАМК.

Для активации ГАМК_С-рецепторов требуется более низкая концентрация ГАМК, чем для активации ГАМК_А-рецепторов. Нечувствительные к бикакуллину хлорные токи, обусловленные ГАМК_С-рецепторами, развиваются медленно, обладают большим динамическим диапазоном и слабой способностью к десенситизации (Pan, Lipton, 1995; Picaud e.a., 1998; Pattnaie.a., 2000). Рецепторы этого типа обеспечивают, видимо, длительную гиперполяризацию мембраны, обусловленную постоянным присутствием во внеклеточной среде некоторого количества ГАМК.

12.2.2.6. Калиевые каналы

На синаптических терминалях палочек в области ленточных синапсов вместе с Ca^{2+} каналами представлены калиевые каналы с большой проводимостью, активируемые кальцием (Barnes, Hille, 1989). В обычных нейронах каналы этого типа участвуют в реполяризации мембраны после спайка. Активация калиевых каналов, вызываемая деполяризацией мембраны и входом кальция в клетку, приводит к гиперполяризации мембраны, обусловленной выходом калия из клетки, и, следовательно, к уменьшению проводимости потенциал-зависимых кальциевых каналов и угнетению выделения медиатора.

В фоторецепторах функция этих каналов не однозначна. Так, в палочках активация этих каналов усиливает выделение медиатора за счет локальной деполяризации синаптической терминали и увеличения входного тока кальция (Xu, Slaughter, 2005). Необычный эффект объясняют тем, что выход калия из клетки через кальций-зависимые калиевые каналы вызывает в синаптической щели локальное повышение концентрации этого катиона, приводящее к деполяризации синаптической терминали. Такая своего рода «калиевая деполяризация» возникает благодаря геометрии инвагинированного синапса, обеспечивающей возможность локального повышения концентрации внеклеточного калия. Полагают, что в палочках позитивная связь кальциевых каналов и активируемых кальцием калиевых каналов лежит в основе нелинейного усиления сигнала и обеспечивает максимальное усиление небольшой гиперполяризации, вызываемой слабым светом в деполяризованном фоторецепторе (Xu e.a., 2005).

Кроме того, этот тип калиевых каналов предотвращает возникновение в фоторецепторах кальциевых спайков. Так, в палочках саламандры деполяризация мембраны, возникающая при выключении яркого света, вызывает лавинообразный вход кальция через кальциевые каналы L-типа и генерацию кальциевого спайка. Выходной ток катионов калия (через кальций-зависимые калиевые каналы с большой проводимостью), возникающий при деполяризации, гиперполяризует мембрану, предотвращая, таким образом, генерацию кальциевых спайков — как спонтанных, так и вызванных выключением света (Xu e.a., 2005).

Другой тип калиевых каналов (с аномальным выпрямлением) предотвращает возникновение в фоторецепторах натриевых потенциалов действия. Так, иммуногистохимические исследования последних лет свидетельствуют о том, что фоторецепторы млекопитающих имеют потенциал-зависимые натриевые каналы (Mojumder e.a., 2007). Более того, сначала в палочках (Kawai e.a., 2001), а потом и в колбочках

(Kawai e.a., 2005), изолированных из сетчатки человека, зарегистрированы потенциалы действия, обусловленные активностью потенциал-зависимых натриевых каналов. Показано, что деполяризация на фоне мембранного потенциала -60 — -70 мВ вызывает генерацию натриевого потенциала действия (Kawai e.a., 2001). Однако в нормальных физиологических условиях гиперполяризация не достигает такой величины благодаря входному току катионов калия (через калиевые каналы с аномальным выпрямлением), возникающему при гиперполяризации мембраны. Подавление этого тока, обеспечивающего поддержание мембранного потенциала на уровне достаточном (около -53 мВ) для инактивации большинства натриевых каналов, приводит к генерации натриевых спайков как спонтанных, так и вызванных светом (Kawai e.a., 2005). Полагают, что в норме генерация фоторецептором натриевого потенциала действия может возникать в ответ на выключение яркого света (Kawai e.a., 2001).

Выводы

- Колбочки менее чувствительны к свету, чем палочки. У палочек реакция на свет развивается и заканчивается медленнее, чем в колбочках, но возникает при меньших интенсивностях света.
- Пигменты с различной спектральной чувствительностью находятся в различных колбочках. Каждый тип колбочек избирательно чувствителен в определенной области спектра.
- Палочки и колбочки распределены по сетчатке неодинаково. У всех позвоночных животных в сетчатке есть область с повышенной плотностью колбочек, где палочек мало или вовсе нет.
- Мембраны, содержащие зрительный пигмент, у палочек изолированы от внеклеточной среды, а у колбочек непосредственно контактируют с ней.
- Наружные сегменты фоторецепторов, содержащие диски со зрительным пигментом, постоянно обновляются.
- Синаптические терминалы фоторецепторов контактируют с горизонтальными и биполярными клетками как через обычные, так и через инвагинированные ленточные синапсы. Палочки сетчатки млекопитающих образуют с биполярными клетками только инвагинированные ленточные контакты.
- В темноте мембрана фоторецептора деполяризована, а его синаптические терминалы постоянно выделяют медиатор. Во всех фоторецепторах позвоночных животных медиатором является глутамат.

- Реакция фоторецептора на вспышку света представляет собой градуальное увеличение негативности мембранного потенциала (гиперполяризация), приводящее к уменьшению либо прекращению выделения медиатора синаптическими терминалями.

- Гиперполяризационная реакция фоторецептора на свет обусловлена прекращением темнового тока катионов через каналы, управляемые цГМФ: в темноте эти каналы открыты для входа в клетку натрия и кальция, а на свету закрыты.

- Каскад биохимических реакций, вызываемый светом в фоторецепторе, начинается с изомеризации ретиналя из цис-формы в транс-форму и заканчивается закрыванием катионных каналов клеточной мембраны, управляемых цГМФ, вследствие снижения концентрации цГМФ внутри клетки.

- Зрительные пигменты относятся к семейству рецепторов, связанных с G-белками. Специфическим G-белком для этих рецепторов является трансдуцин.

- Инактивацию фотолизированного зрительного пигмента и восстановление внутриклеточной концентрации цГМФ стимулируют низкомолекулярные кальций-связывающие белки в не связанной с кальцием форме, возникающей при снижении внутриклеточной концентрации кальция до определенного уровня.

- Снижение концентрации кальция внутри клетки, вызванное светом, возникает благодаря Na/Ca,K обменнику, удаляющему из клетки кальций после прекращения входа этих катионов через цГМФ-управляемые каналы.

- Концентрацию кальция в синаптических терминалях фоторецептора, необходимую для везикулярного выделения медиатора, обеспечивают расположенные на их мембране потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа.

- Потенциал-зависимые ионные каналы, ионотропные рецепторы ГАМК (ГАМК_А и ГАМК_С), метаботропные рецепторы и переносчики глутамата, расположенные на синаптических терминалях, модулируют выделение медиатора фоторецепторами.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Николлс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. Москва: УРСС. 2003. Гл. 19. С. 414-442.
2. Смит К. Биология сенсорных систем. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2005.

Дополнительная

1. Eliasof S., Werblin F. (1993) Characterization of the glutamate transporter in retinal cones of the tiger salamander. *J. Neurosci.* 13, p. 402-411.
2. Fain G. L., Matthews H. R., Cornwall M. C., Koutalos Y. (2001) Adaptation in Vertebrate Photoreceptors. *Physiological Reviews.* 81, p. 117-151.
3. Fu Y., Yau K. W. Phototransduction in mouse rods and cones (2007) *Pflugers Arch. Eur. J. Physiol.* 454, p. 805-819.
4. Gaal L., Roska B., Picaud S. A., Wu S. M., Marc R., Werblin F. S. (1998) Postsynaptic response kinetics are controlled by a glutamate transporter at cone photoreceptors. *J. Neurophysiol.* 79, p. 190-196.
5. Hosoi N., Arai I., Tachibana M. (2005) Group III metabotropic glutamate receptors and exocytosed protons inhibit L-type calcium currents in cones but not in rods. *J. Neurosci.* 25, p. 4062-4072.
6. Hurley J.B. (1995). Recoverin and Ca²⁺ in vertebrate phototransduction. *Behavioral and Brain Sciences* 18, p. 425-428.
7. Kaneko A., Tachibana M. (1986) Effects of gamma-aminobutyric acid on isolated cone photoreceptors of the turtle retina. *J. Physiol.* 373, p. 443-461.
8. Kawai F., Horiguchi M., Ichinose H., Ohkuma M., Isobe R., Miyachi E. (2005) Suppression by an h current of spontaneous Na⁺ action potentials in human cone and rod photoreceptors. *Invest. Ophthalmol. & Visual Sci.* 46, p. 390-397.
9. Koulen P., Brandstätter J.H. (2002) Pre- and postsynaptic sites of action of mGluR8a in the mammalian retina. *Invest. Ophthalmol. Visual Sci.* 43, p. 1933-1940.
10. Leskov I.B., Klenchin V.A., Handy J.W., Whitlock G.G., Govardovskii V.I., Bownds M.D., Lamb T.D., Pugh E.N. Arshavsky V.Y. (2000) The gain of rod phototransduction: reconciliation of biochemical and electrophysiological measurements. *Neuron* 27, p. 525-537.
11. Mendez A., Burns M.E., Sokal I., Dizhoor A.M., Baehr W., Palczewski K., Baylor D.A., Chen J. (2001) Role of guanylate cyclase-activating proteins (GCAPs) in setting the flash sensitivity of rod photoreceptors. *Proc Natl Acad Sci USA* 98, p. 9948-9953.
12. Menon S., Han M., Sakmar T.P. (2001) Rhodopsin: structural basis of molecular physiology. *Physiol. Rev.* 81, p. 1659-1688.
13. Nelson R. (1977) Cat cones have rod input: a comparison of the response properties of cones and horizontal cell bodies in the retina of the cat. *J. Comp. Neurol.* 172, 109-136.
14. Picaud S., Pattnaik B., Hicks D., Forster V., Fontaine V., Sahel J., Dreyfus H. (1998) GABAA and GABAC receptors in adult porcine cones: evidence from a photoreceptor-glia co-culture model. *J. Physiol. (Lond)* 513, p. 33-42.
15. Schwartz E. A. Transport-Mediated Synapses in the Retina. (2002) *Physiol. Rev.* 82, p. 875-891.
16. Sjostrand F.S. (1976) The outer plexiform layer of the rabbit retina, an important data processing center. *Vis. Res.*, 16, p. 1-14.
17. Trifonov Y.A. (1968) Study of synaptic transmission between the photoreceptor and the horizontal cell using electrical stimulation of the retina. *Biofizika.* 13, p. 809-817.

18. Wassle H., Boycott B.B. (1991) Functional architecture of the mammalian retina. *Physiol. Rev.* 71, p. 447-480.
19. Xu J.W., Slaughter M.M. (2005) Large-conductance calcium-activated potassium channels facilitate transmitter release in salamander rod synapse *J. Neurosci.* 25, p. 7660-7668.
20. Yazulla S., Studholme K.M.(1997) Light adaptation affects synaptic vesicle density but not the distribution of GABAA receptors in goldfish photoreceptor terminals. *Microsc. Res. Tech.* 36, p. 43-56.

Глава 13. ПЕЙСМЕКЕРНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ: ПРОИСХОЖДЕНИЕ И ФУНКЦИИ

Пейсмекер — эндогенная по происхождению, ритмичная по выражению форма активности нервных клеток, в основе которой лежит генетически заданная программа.

Пейсмекер может быть выражен циклическими изменениями биохимических процессов, периодической экспрессией определенных генов, синтезом белков, необходимых целому организму или отдельному органу. В зависимости от метода изучения показателями работы пейсмекера могут быть как электрические явления, зарегистрированные на отдельном нейроне, нейронной системе или целом мозге, так и изменения биохимического состава внутреннего содержимого клеток. В нейрофизиологии пейсмекерными потенциалами называют близкие к синусоидальным колебания мембранного потенциала с частотой 0,1–300 Гц, амплитудой 1,5–20 мВ. Такие синусоидальные эндогенные осцилляции мембранного потенциала лежат в основе ритмической спайковой активности многих нейронов.

Возникает предположение о том, что в процессе эволюции сформировался вид нейронов, имеющих пейсмекерный механизм, и именно эти нервные клетки наделены свойствами, которые позволяют им регулировать функциональные состояния, быть генераторами ритмов мозга, участвовать в явлениях памяти, управлять движениями.

Результаты опытов, проведенных на живых существах разного эволюционного уровня, подтверждают идею о том, что пейсмекер является свойством, присущим нейронам разных живых существ. Пейсмекер — самая древняя форма эндонейрональной активности, она существует уже у прокариотов и представлена у нейронов многих структур мозга млекопитающих. Механизмы реализации пейсмекерных осцилляций сформированы в эволюции: каналы специфической ионной проводимости, необходимые для актуализации пейсмекерного механизма, появляются у прокариотов, сохраняются и обогащаются новыми формами при переходе к многоклеточности. Пейсмекерный механизм реализует многие функции, в том числе запуск процесса клеточной дифференциации. Функции пейсмекера определяются задачами этих структур. Пейсмекер — трансля-

тор генетической памяти. Активация пейсмекера происходит через эндогенно возникающие сигналы и через определенные синаптические связи. Обучение — один из способов экзогенного (через синапсы и экстраклеточное пространство) влияния на пейсмекерный механизм.

13.1. Понятие пейсмекера

Осциллятор — это физическая система, совершающая колебания (определенные показатели ее активности периодически повторяются во времени). Термином «осциллятор» пользуются для любой системы, если описывающие её величины периодически меняются со временем. Осциллирующие нейронные сети — системы, для которых естественным режимом функционирования являются колебания активности отдельных элементов, групп элементов или всей сети. Функциональной единицей таких сетей является осциллятор. Осциллятором может быть или отдельный элемент, наделенный особыми свойствами, или группа элементов, связанных между собой особым способом. Нейрофизиологические эксперименты демонстрируют существенную, а возможно, и центральную роль осцилляторных процессов в работе нервной системы. Одна из основных гипотез состоит в том, что процесс обработки информации в нервной системе может описываться в терминах синхронизации активности различных нейронных структур (Кузнецов, 2001, Лебедев, 2006, Иваницкий и Лебедев, 2007, Данилова, 2008).

Пейсмекер — берущий на себя инициативу, задающий активность, ритм действий. Пейсмекер — это то, что заставляет систему осциллировать. В живых системах пейсмекером называют один из эндогенных механизмов управления. Пейсмекером может быть совокупность клеток определенного органа, специализированной функцией которых является организация взаимодействия клеток, или же отдельные клетки, наделенные способностью внутреннего генератора. Различают тонические и ритмические пейсмекеры. Например, синоатриальный узел сердца — ритмический пейсмекер, задающий базовый ритм сокращений сердца; клетки дыхательного центра ствола головного мозга, задающие ритм возбуждения нейронам продолговатого мозга, которые управляют чередованием вдоха и выдоха, — это тонический пейсмекер. Пейсмекерный механизм является универсальным и обнаружен у нейронов живых существ разного эволюционного уровня: от одноклеточных до человека.

Пейсмекер может быть выражен циклическими изменениями биохимических процессов, периодической экспрессией определенных генов, синтезом белков, необходимых целому организму или отдельному органу. В зависимости от метода изучения показателями работы пейсмекера могут быть как осциллирующие электрические явления, зарегистрированные на отдельном нейроне, нейронной системе или целом мозге, так и периодические изменения биохимического состава внутреннего содержимого клеток. Говоря о механизме пейсмекера, необходимо иметь в виду глубину анализа, доступную современному уровню изучения живых систем. Например, осцилляции мембранного потенциала, зарегистрированные внутриклеточным микроэлектродом, являются отражением деятельности пейсмекера, а изменения ионной проводимости, обеспечивающие эти осцилляции, могут рассматриваться в качестве механизма.

В нейрофизиологии пейсмекерными потенциалами называют близкие к синусоидальным колебания мембранного потенциала с частотой 0,1-300 Гц, амплитудой 1,5-20 мВ (рис. 13.1). Такие синусоидальные эндогенные осцилляции мембранного потенциала лежат в основе ритмической спайковой активности многих нейронов.

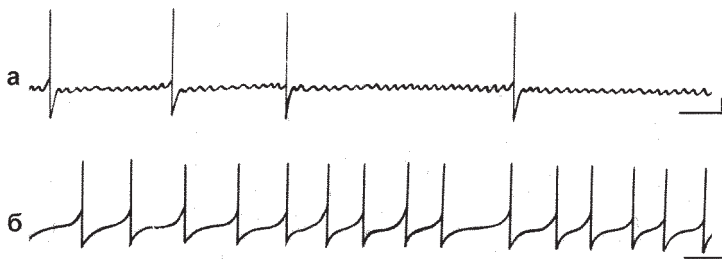


Рис. 13.1. Пейсмекерная активность изолированных нейронов моллюска *Helix lucorum*. а — синусоидальные колебания, достигающие и не достигающие порога генерации потенциала действия (ПД); б — ПД, зарегистрированные у изолированного нейрона, запускаемые эндогенным пейсмекерным механизмом. Калибровка: 10 мВ, 1 с.

Возникает предположение о том, что в процессе эволюции сформировался класс нейронов, имеющих пейсмекерный механизм, и именно эти нервные клетки наделены свойствами, которые позволяют им регулировать функциональные состояния, быть генераторами ритмов мозга, участвовать в явлениях памяти, управлять движениями (Данилова, 2006, Armus et al., 2006, Geisler et al., 2005, Moortgat et al., 2000, Соколов, 2005).

13.2. Пейсмекеры одноклеточных

Применение микроэлектродной техники позволило установить, что электрическая активность одноклеточных представлена пейсмекерными по форме и эндогенными по происхождению колебаниями мембранного потенциала (МП).

Электрофизиология прокариотов. Древняя цианобактерия *Synechocystis* — это одноклеточный фотосинтетический прокариот, который может акклиматизироваться к широкому ряду изменений окружающей среды. Сложные нуклеотидные последовательности его генома теперь расшифрованы, и поэтому *Synechocystis* может служить полезной моделью для изучения молекулярных механизмов клеточных ответов к различным воздействиям. Клетки *Synechocystis* имеют механочувствительные ионные каналы, локализованные в плазматической мембране. Ионные каналы — это молекулярные поры, которые облегчают прохождение ионов через клеточные мембраны и участвуют в ряде биологических процессов — от передачи возбуждающих сигналов в нервной системе млекопитающих до изменений плавательного поведения у простейшей парамеции. Было установлено, что клетки *Synechocystis* способны реализовывать Ca^{2+} в ответ на деполяризацию мембраны ионофором K^+ валиномицином в присутствии K^+ . Показано также, что Ca^{+} ответ возникает при деполяризации клетки повышением температуры, то есть Ca^{2+} опосредует ответы на стрессовые условия (Nazarenko et al., 2003).

Определенные ионные каналы классифицируются как вольт-зависимые, потому что они имеют потенциал-чувствительную структуру, которая побуждает поры открываться в ответ на изменение напряжения на клеточной мембране. Совсем недавно потенциал-зависимые каналы K^+ , Ca^{2+} и Na^+ рассматривались как уникальный результат развития эукариотических клеток, приспособленных для совершения электрической сигнализации, как, например, у нейронов. В настоящее время получены функциональные характеристики потенциал-зависимых K^+ каналов у гипертермофильных аэробактерий из океанских термальных источников. Кроме того, обнаружен и механизм торможения калиевых каналов. Аналогичный механизм работает и у эукариотических K^+ каналов (Ruta et al., 2003).

Два особенно важных семейства ионных каналов, обнаруженных у цианобактерий, — это ионотропные глутаматные рецепторы (GluRs) и калиевые каналы. GluRs проницаемы для Na^+ , K^+ и Ca^{+} , управляются глутаматом и ранее были обнаружены только у эукариотов. Наоборот,

калиевые каналы избирательны для K^+ , управляются целым рядом стимулов и найдены и у эукариотов, и у прокариотов. Изучение фармакологических и физиологических свойств нейронных глутаматных рецепторов показало, что они подразделяются на три подтипа, основанных на чувствительности к агонистам. Все три типа также активируются глутаматом — физиологическим нейротрансмиттером. Описана функциональная характеристика глутаматного рецептора GluR0 цианобактерии *Synechocystis* PCC 6803. Этот рецептор является первым, обнаруженным у прокариотов. GluR0 связывает глутамат, формирует каналы, избирательные для калия, и связывается с аминокислотной последовательностью к эукариотической GluRs и калиевым каналам. На основе аминокислотной последовательности и функционального отношения между GluR0 и эукариотическим GluRs выдвинуто предположение, что прокариотический GluR является предшественником эукариотического GluRs. GluR0 обеспечивает недостающие сведения о связи между калиевыми каналами и GluRs. Предполагается, что их ионные каналы имеют сходную архитектуру, а управляющие механизмы GluRs и калиевых каналов имеют одинаковые основные свойства (Chen et al., 1999, Arinaminpathy et al., 2003). Проведенные исследования доказывают, что ионные каналы, реализующие электрическое проявление пейсмекерной активности, начали формироваться уже у прокариотов.

Пейсмекеры одноклеточных эукариотов. Эукариоты в виде одноклеточных организмов, имеющих ядро и митохондрии, появились примерно 2,5 млрд. лет назад. Это свободноживущие одноклеточные эукариоты, возникшие разными эволюционными путями и демонстрирующие чрезвычайное разнообразие форм и поведения: они могут быть хищными, подвижными и прикрепленными. Их характеризует сложное строение, например, они могут иметь щетинки, фоторецепторы, жгутики, ногоподобные отростки, ротовой аппарат, жалящие иглы и мышечноподобные пучки сократительных волокон. Хотя все простейшие являются одноклеточными, они организованы так же сложно, как многие многоклеточные организмы. Одноклеточных эукариотов много и в современных морях, и в пресных водоемах.

Paramecium — род микроскопических одноклеточных организмов, ведущих активный образ жизни. Клетки имеют форму туфельки длиной 0,12–0,13 мм (рис. 13.2). Несмотря на то что прошло уже больше 100 лет со дня опубликования первых работ, в которых дается описание некоторых двигательных реакций *Paramecium*, механизмы форми-

рования поведения во многом остаются непонятными. За последние тридцать лет исследователями накоплен громадный материал по структуре различных клеточных элементов, свойствам электровозбудимой цитоплазматической мембраны, белковому составу и свойствам отдельных белков, входящих в систему управления двигательной активностью парамеций, и получено большое количество мутантов с нарушениями двигательной активности. Кроме того, сегодня уже есть определенные представления о работе ряда систем, входящих в структуру формирования и управления двигательной активностью. Все это позволяет проводить системные исследования механизма происхождения двигательной активности парамеций, которая чрезвычайно сложна. Смыслообразующим центром адаптивного поведения одноклеточных является механизм управления локомоторной активностью как единого организма. Наблюдения за поведением инфузорий в различных ситуациях показывают, что вариации его весьма многообразны, чувствительность к различным факторам окружающей среды высока и любое изменение этой привычной среды вызывает соответствующий поведенческий эффект. Нейрофизиологический механизм, обеспечивающий ориентировочно-исследовательское поведение, у парамеций может быть только эндонейрональным по причине одноклеточности этих живых организмов. Анализ экспериментальных данных, полученных при изучении поведения как свободно плавающих одноклеточных, так и в различных ситуациях обучения позволяет сделать вывод о том, что система управления движениями должна быть многоуровневой и включать в себя рецепторное, афферентное центральное, эфферентное и эффекторное звенья. При этом роль центрального интегратора и координатора двигательного поведения может выполнять ядро клетки, тесно связанное с периферией с помощью динамичных элементов цитоскелета (Свидерский и др., 2007).

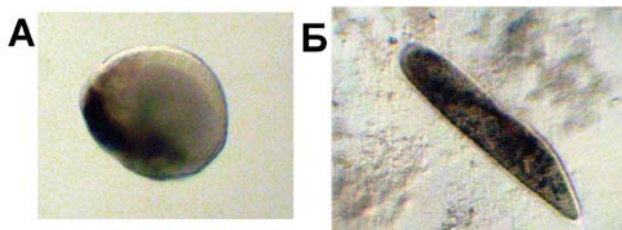


Рис. 13.2. Объекты экспериментов: А — изолированный нейрон ЛПа2; Б — инфузория *Paramecium caudatum*.

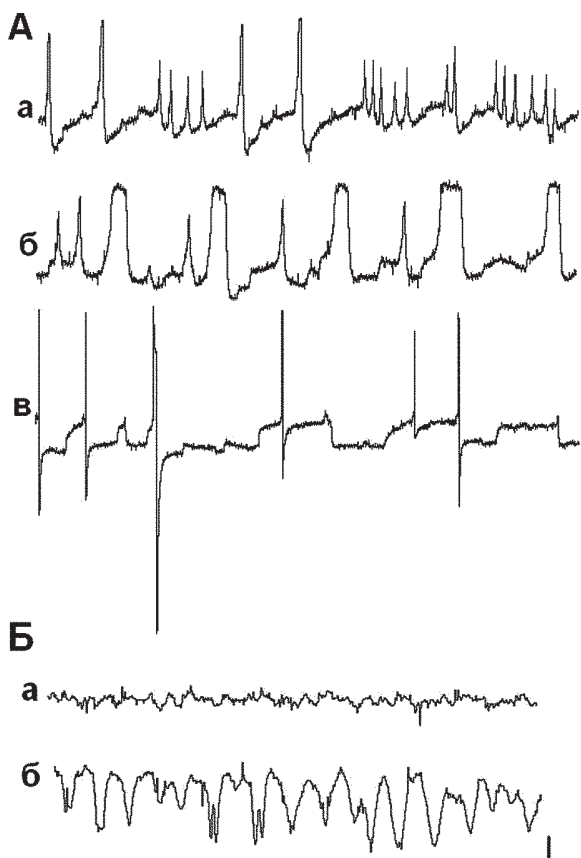


Рис. 13.3. Фоновая активность, зарегистрированная внутриклеточными электродами у инфузории *Paramecia caudatum*. А. Электрические потенциалы, зарегистрированные в течение опыта у одной и той же клетки: а, б — участки активности, представленные несколькими эндонейрональными осцилляторами; в — генерация разноамплитудных потенциалов действия у той же самой парамеции. Б — фоновая активность, зарегистрированная у парамеции в другом опыте: а — осцилляции высокой частоты и небольшой амплитуды у спокойной парамеции; б — изменение фоновой активности у той же парамеции через 7 мин. от начала регистрации. Калибровка: 10 мВ. 1 с.

Множественность пейсмекеров одноклеточных. Регистрация электрической активности внутриклеточным микроэлектродом у инфузории *Paramecium caudatum* показала разнообразие осцилляторной ак-

тивности. Регистрация производилась от парамеции в момент ее отдыха: не применялось каких-либо обездвиживающих приемов, так как все способы в определенной степени травмируют двигательную систему этого одноклеточного. По этой причине регистрации были кратковременны — не более 15 мин. Записи электрической активности показывают, что, во-первых, в клетке регистрируются медленные и быстрые осцилляции, как это было описано в работе Коштыянца и Кокиной (1962), во-вторых, активны, как правило, одновременно несколько эндогенных осцилляторов, что совпадает с наблюдениями других авторов (Доронин и Зазулин, 1976). На некоторых записях можно выделить два-три одновременно работающих пейсмекера (рис. 13.3). Увеличение амплитуды волн эндогенной активности может приводить к генерации ПД (рис. 13.3, А, а-в). Амплитуда ПД, по-видимому, зависит от функциональных особенностей вызвавшего его пейсмекера. На нейрограммах можно видеть спайки как одинаковой, так и отличающейся амплитуды. Они отличаются друг от друга на единицы и даже десятки мВ. (рис. 13.3, А, в).

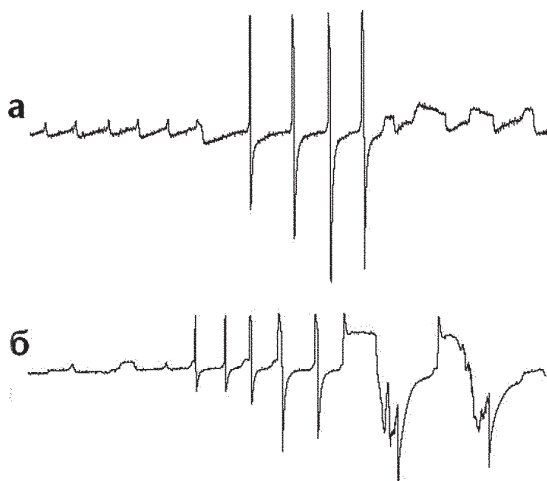


Рис. 13.4. Электрическая активность, зарегистрированная у инфузории *Paramecia caudatum* внутриклеточным микроэлектродом в ответ на освещение ее белым светом через 6 мин. (а); б — аналогичный опыт на другой парамеции. Калибровка: 10 мВ, 1 с.

В опыте обнаружили, что включение белого света влияет на электрическую активность одноклеточного существа (рис. 13.4). Изменение мембранного потенциала под влиянием световых сигналов отмечен и

другими авторами (Kuhlmann, 1998). В рассматриваемом опыте интересен факт включения пейсмекерной активности, достигающей порога генерации спайка, подключением механизма, который напоминает по электрофизиологическому эффекту ТПСР увеличивающейся амплитуды (рис. 13.4, а). Каждая следующая волна приводит к повышению уровня поляризации мембраны, так что при критическом увеличении разности потенциалов происходит запуск механизма спайкогенерации. Аналогичное явление мы получили на полностью изолированных нейронах, когда при повторных микроапликациях нейромедиатора возникал ТПСР, инициирующий постепенный запуск пейсмекера (рис. 13.11, б). Однако в рассматриваемом примере, полученном на одноклеточной парамеции, механизм активации эндогенного процесса был связан только с прямым действием света на мембрану. Описываемое явление было воспроизведено и на других парамециях (рис. 13.4, б).

Некоторые исследователи предполагают, что ритмические колебания потенциала являются отражением деятельности системы осморегуляции (Доронин и Зазулин, 1976). Аналогичные гиперполяризационные отклонения возникают при искусственном повреждении значительного участка клеточной поверхности и исчезают после регенерации нанесенного повреждения, а также в момент смерти клетки, когда происходит деструкция клеточной оболочки. Медленные регулярные колебания потенциала известны у *Opalina nana* (Коштоянц и Кокина, 1962). Они связываются с изменением направления биения ресничек. Подводя итог приведенным данным, можно сказать, что электрическая гетерогенность одноклеточных является отражением субстанциональной и функциональной изменчивости, предопределяется существованием этой клетки как самостоятельного организма (Доронин и Зазулин, 1976).

Спонтанные изменения поведения. Анализ работ, посвященных изучению врожденных и приобретенных форм поведения у беспозвоночных, позволяет сделать вывод о том, что способность к накоплению индивидуального опыта появляется в эволюции на самых ранних ступенях развития — у донервных простейших организмов (Тушмалова, 1987). Спонтанные изменения поведения — тенденция организма поворачивать направо или налево в лабиринте — являются стандартной метрикой кратковременной памяти в экспериментах по психофармакологии и развитию. Хотя спонтанные изменения поведения являются, пожалуй, наиболее распространенной формой поведения в филогенезе подвижных биологических форм, существуют и спорные сведения. Например,

предыдущие исследования дали противоречивые данные о существовании спонтанных изменений поведения у простейших парамеций. Но в этих работах рассматривалось поведение многих одноклеточных с использованием слишком разных тестов и различных экспериментальных конструкций. Применение простого устройства позволило показать, что фактически оба вида одноклеточных не отличаются изменчивостью поведения. В особенности изменения спонтанные проявляются в лабиринтах с короткими треками, но не с длинными. Эти результаты полностью согласуются с данными, полученными на других видах одноклеточных, и устраняют противоречие, связанное с более ранними работами на парамециях (Hughes, 2004). Кроме того, они показывают, что необходимо проявлять осторожность при интерпретации результатов, полученных на разных видах, тестируемых в различных устройствах. Предполагается, что, по крайней мере, у некоторых таксонов спонтанные изменения поведения не прямо зависят от использования кратковременной памяти (Harvey, Bovell, 2006). Одноклеточные проявляют предпочтение определенным полярностям электрического тока, что было показано в поведенческих опытах (Armus and Montgomery, 2001). Оказалось, что электрическое раздражение средней силы от катодного источника может служить положительным и привлекательным для парамеций воздействием, анодная стимуляция обладает прямо противоположными свойствами — вызывает отворачивание и избегание.

Влияние окружающей среды на пейсмекеры одноклеточных. Парамеции отвечают на химические воздействия окружающей среды. Среди таких сигналов находятся вещества, выполняющие нейромедиаторную функцию у многоклеточных животных, например, ацетилхолин и глутамат (Коштыянец и Кокина, 1962, Van Houten, 1998). Описаны ответы на глутамат: одноклеточные привлекаются L-глутаматом больше (при его добавлении во внеклеточную среду), чем высокой концентрацией глутамата с KCl. (Van Houten, 1998).

Кальций и регуляция поведения парамеции. Многие стимулы: температурные, электрические, механические, химические — могут влиять на скорость плавания, а также на частоту и продолжительность видов плавания (вперед-назад, вращательное). Эти ответы обычно кратковременны. Клетка возвращается к своему предстимульному поведению в условиях постоянного присутствия стимула, демонстрируя форму сенсорной адаптации. Например, увеличение скорости плавания коррелирует с мембранной деполяризацией. Сильная деполяризация может вызывать градуальный Ca-зависимый потенциал действия, при-

водя к вращательному и обратному плаванию, которое связано с повышением концентрации внутриклеточного Ca^{2+} .

Усиленные электрофизиологические исследования реснитчатых простейших, таких, как *Paramecium* и *Stylonychia*, позволили установить, что двигательное поведение этих одноклеточных организмов регулируется возбудимостью мембраны. Внешние стимулы, такие, как механическое раздражение, деполяризация или гиперполяризация мембраны, соответствуют топографической организации рецепторной проводимости. Деполяризация, связанная с активацией рецептора, усиливается, чтобы стать градуальным потенциалом действия, который своим происхождением обязан расположению вольт-зависимых Са-каналов. Са, входящий внутрь клетки по электрохимическому градиенту, повышает концентрацию внутриклеточного кальция и запускает тем самым специфическую двигательную реакцию ресничек, называемую *ciliary reversal*. Гиперполяризация мембраны изменяет частоту и направление биения ресничек таким образом, что становится причиной ускорения движения клетки вперед. Участие ионов кальция в регуляции этих плавательных движений до конца не выяснена (Brehm and Eckert, 1998).

Концентрация внутриклеточного кальция является хорошо известным сигналом для регуляции различных физиологических активностей. Во многих случаях Ca^{2+} одновременно регулирует несколько функций в одной клетке. Каким же образом происходит независимое регулирование? У парамеций сократительная цитоскелетная система и реснички расположены близко друг к другу вблизи клеточной поверхности. Сокращения тела клетки, прекращение биения ресничек и увеличение частоты этих биений регулируется при помощи концентрации внутриклеточного кальция. Перечисленные процессы не всегда запускаются одновременно. В одноклеточное (парамецию) инъецировали связанный кальций и постоянно применяли ультрафиолетовое освещение, чтобы повысить концентрацию внутриклеточного кальция. Сокращения тела клетки начинались сразу же со включением ультрафиолета, и степень сокращений постепенно изменялась. С другой стороны, биение ресничек реверсировало через 1,4 с после включения ультрафиолета и полностью завершалось через 100 мс. Частота биения ресничек в обратном направлении была значительно выше, чем в нормальном направлении. Эти результаты показывают, что сокращения тела регулируются внутриклеточным кальцием по типу «доза-эффект», а изменение направления движения ресничек и скорость биений запус-

каются внутриклеточным кальцием по типу «все-или-ничего» (Iwadate, Nakaoka, 2008)

Внутриклеточная сигнализация у одноклеточных и осцилляций. Внутриклеточная сигнализация и взаимодействие клетки с клеткой является основной чертой живых организмов. Реснитчатые простейшие обнаруживают сложные механизмы внутриклеточной сигнализации. Реснитчатые контактируют (взаимодействуют) с другими клетками, например, симбиотически с микроорганизмами, которые находятся в ядре. Реснитчатые взаимодействуют и друг с другом. Многие феномены клеточной коммуникации у реснитчатых, по-видимому, сходны с теми, которые обнаружены у мультিকлеточных организмов (Girtz et al., 1999, Christensen et al., 1998). Пуриновый нуклеотид GTP при экстраклеточном добавлении вызывает осцилляции плавательного поведения у простейших *Paramecium tetraurelia*. В течение 10 мин. клетка плавает попеременно вперед-назад. Осцилляции плавательного поведения управляются изменением мембранного потенциала клетки, который, в свою очередь, является причиной периодической активации входящего Mg^{2+} и Na^{+} - специфического тока. Когда исследовали мутантов (клетки, не обнаруживающие такого вида поведения при экстраклеточном влиянии GTP), то оказалось, что, во-первых, они могут быть нечувствительными к GTP при его добавлении в окружающую среду, во-вторых, этот нуклеотид может не вызывать изменений мембранных токов, которые обнаруживаются при его действии на «нормальные» клетки. Предполагается, что у мутантов затрагивается эндогенный осциллятор (Mimikakis et al., 1998). В экспериментах (Van Houten et al., 1998) было найдено, что глутамат гиперполяризует клетку. Ионный механизм до конца не изучен, но не исключено, что участие принимает K- проводимость. Глутамат вызывает резкое и быстрое увеличение цАМФ в клетке. Вероятно, в передачу сигнала вовлекается протеинкиназа. Активация протеинкиназы при быстром увеличении цАМФ может поддерживать гиперполяризацию клетки, фосфорилирование и активацию плазматического мембранного кальциевого насоса. Есть и другие протеины, связывающие глутамат на мембране клетки. Наблюдение за движениями парамеций, изучение их траекторий и форм позволили сделать вывод о том, что биомолекулярная система, которая содержит кальмодулин, кальмодулин-зависимые ионные каналы, аденилатциклазу, гуанилатциклазу, фосфодиэстеразу, $Ca(2+)$ -кальмодулин, цАМФ, цГМФ-зависимые протеинкиназы, фосфатазу, способна регулировать двигательную активность, необходимую для сложных пере-

движений парамеций в различных условиях Предполагается, что молекулярная система, состоящая из нескольких типов потенциал- и лиганд-зависимых каналов (калиевых и кальциевых), кальмодулина, аденилатциклаз, гуанилатциклазы, фосфодиэстераз, Ca^{2+} -кальмодулин, цАМФ-, сГМФ-зависимых протеинкиназ, фосфопроteinфосфатаз и т.д. (показано, что все это у парамеций есть), обладает свойствами, обеспечивающими управление несколькими двигательными реакциями. И даже можно сказать, что в свойствах этой системы заложено автоматическое решение определенных двигательных задач, требующих достаточно сложного маневрирования. К этим задачам можно отнести: задачи маневрирования в среде с различными препятствиями, задачи поиска пищи или полового партнера, двигательные задачи защиты и т.д. (Котов и др., 2000).

13.3. Пейсмекеры многоклеточных

Эндогенное происхождение пейсмекера. Осцилляции, зарегистрированные в опытах на одноклеточных, не нуждаются в подтверждении эндогенного происхождения по причине уникальности объекта (рис. 13.2). На многоклеточных, сложно организованных нервных системах специальные опыты необходимы: причиной осцилляций могут быть сложные межнейронные взаимодействия.

Спонтанные потенциалы действия, которые развиваются в клетках без очевидного синаптического возбуждения, были обнаружены у ряда нейронов позвоночных и беспозвоночных. Считается, что эти потенциалы действия возникают благодаря пейсмекерному механизму, который присущ данной клетке и является независимым от других нейронов (Bullock and Horridge, 1965). Существование эндогенной пейсмекерной активности у нейронов моллюсков убедительно доказано работами Альвинг, Баумгартена, и др. У нейронов аплизии существуют различия, которые связаны с местом возникновения пейсмекерных ПД и ПД, вызываемых синаптической активностью. Все синапсы у этих нейронов локализованы на дистальных отростках клетки, а сома синапсов не имеет. Более того, Таус (1962) показал для идентифицированного нейрона, что при возникновении синаптического возбуждения распространяющийся потенциал действия возникает в дистальной части отростков и этот спайк является причиной запуска соматического ПД. В противоположность этому потенциал действия, генерируемый пейсмекерным механизмом, инициируется сомой нейрона (Alving, 1969).

В висцеральном ганглии аплизии примерно 50-75% крупных нейронов демонстрируют спонтанные пейсмерные разряды (Carpenter, 1967; Frazier, 1968, Kandel et al., 1967). Пейсмерные разряды могут быть регулярными (ритмичный пейсмер) или же состоять из периодических разрядов, разделенных периодами молчания (залповый или берстовый пейсмер). Более 30 нейронов висцерального ганглия были идентифицированы по размеру, местоположению, синаптическим связям и паттерну разрядов. С небольшими вариациями идентифицированные клетки проявляют тенденцию демонстрировать одну и ту же форму разрядов от препарата к препарату по присутствию или отсутствию или по паттерну пейсмерных разрядов. По крайней мере, один пейсмерный нейрон демонстрирует два или больше циркадианных ритмов (Strumwasser, 1965).

Локализация пейсмера. Структурой, обеспечивающей пейсмерную активность, считается ограниченный, электрически активный участок мембраны — локус. Из опытов А. Арванитаки и Х. Шилазонитис (Arvanitaki, Chalasonitis, 1956) следует, что размер локуса пейсмерной активности на мембране нейрона равен 50-100 мкм. Таких участков на соме нейрона может быть несколько. Альвинг (Alving, 1968) провела эксперименты на нейронах морского моллюска, моллюска аплизии, применив перевязку аксона шелковой ниткой. Сомы пейсмерных и непейсмерных нейронов изолировали при помощи лигатуры вокруг аксонов между сомой и синаптической областью и регистрировали трансмембранные потенциалы. Опыты показали, что нейроны, демонстрировавшие пейсмерную активность до перевязки аксона, сохраняли ее и после этого. Изолированная сома пейсмерного нейрона имела спонтанные разряды, а изолированная сома непейсмерного нейрона была молчащей. Кроме того, обнаружили, что время адаптации у этих нейронов было разным. У пейсмерных нейронов инъекцированный ток вызывал изменение скорости разрядов, которое сохранялось до конца предъявления тока, а у непейсмерных нейронов отмечены только временные изменения скорости разрядов (рис. 13.5). Бесспорное подтверждение эндогенного происхождения пейсмерного потенциала и его независимости от влияний системы достигается полной механической изоляцией нейрона после обработки мозга одним из протеолитических ферментов (трипсином, сахарозой, проназой и т.д.) (рис. 13.2). В изолированном нейроне остается только пейсмерная активность, сохраняя тот же уровень колебаний, что и в интактном ганглии (Baumgarten et al., 1971). Способность к длительной

ритмической активности сохраняется у некоторых клеток в течение длительного времени после их полной физической изоляции из нервной системы. Следовательно, в ее основе действительно лежат эндогенные процессы, приводящие к периодическому изменению ионной проницаемости поверхностной мембраны (Греченко, Соколов, 1979, Baumgarten et al., 1971). У многих нейронов аплии пейсмекерные разряды значительно редуцируются или даже полностью исчезают при замещении внешнего Na^+ трисом или сахарозой, но не исчезают при замещении натрия литием, NH_4^+ . Однако у некоторых клеток обнаружены спонтанные разряды даже при полном отсутствии Na^+ при обеспечении Ca^{++} .

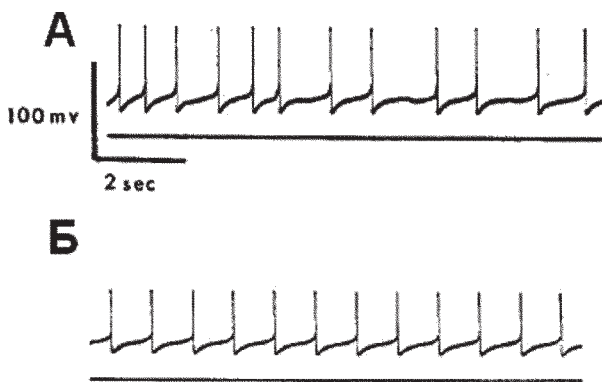


Рис. 13.5. Образцы электрической активности нейрона аплии. А — трансмембранный потенциал зарегистрирован у интактного пейсмекерного нейрона, получающего возбуждательные и тормозные синаптические входы. Б — трансмембранный потенциал, зарегистрированный у того же самого нейрона после наложения лигатуры в области хиллока. Не отмечено никаких изменений потенциала покоя (по Alving B. O. Spontaneous activity in isolated somata of *Aplysia* pacemaker neurons *J Gen Physiol.* 1968 Jan; 51(1):29-45).

Получены результаты, которые показывают, что пейсмекерный locus и триггерная зона спайков у интактного пейсмекерного нейрона локализована на соме (Alving, 1968).

Пейсмекерные нейроны аплии исследовались Штрумвассером и другими авторами. Waziri et al. (1965) считали, что результаты соответствуют наблюдениям за активностью нервных волокон Пуркинье, но в дальнейшем выдвинули предположение о том, что пейсмекерная активность является результатом высокой проводимости в покое для Na^+ с вольт- и временной зависимостью для K^+ после потенциала действия.

Strumwasser (1967, 1968) подчеркивал, что метаболически активные процессы также могут оказаться важными для организации паттернов пейсмекерной активности. Например, Chaplain (1979) предполагает, что эндогенная ритмическая активность пейсмекерных нейронов аплии контролируется при помощи действий с циклом субстратов. Повторные циклы fructose-6-phosphate опосредуются двумя мембраносвязанными энзимами — phosphofructokinase (PFK) и fructose-1,6-diphosphatase (FDP). Аллостерические эффекторы, которые активируют PFK-FDPase систему, увеличивают регулярную ритмическую активность или индуцируют залповую (берстовую) активность, а тормозные эффекторы снижают пейсмекерную активность. Ассоциированный с PFK-FDPase цикл — это медленные осцилляции мембранного потенциала, если предположить, что изменения амплитуды и временного периода волн связаны с циклическими флуктуациями H^+ ионов и АТФ. Реакции других энзимов, которые затрагивают концентрацию глюконогенных субстратов или PFK эффекторов, могут модулировать осцилляторный управляющий вход. На изолированных пейсмекерных нейронах действие тока может включить предсуществовавшие периоды активности пейсмекера.

Локализация пейсмекера на аксонных ветвях. Изучение эндогенной активности нейронов разных живых существ показало, что локус пейсмекерной активности может располагаться и на отростках. В частности, не исключается возможность их присутствия на дендритах. Цель работы Кононенко (2000) заключалась в определении роли аксо-дендритного дерева в генерации берстовой пейсмекерной активности у идентифицированного нейрона Rpa1, который гомологичен нейрону R15 у аплии, и распространении ПД по аксону. Регистрировалась активность этого нейрона после перерезки правой или левой коннективы. При этом применялась фиксация напряжения на мембране и регистрировалась активность висцерального нерва, который содержит ветвь аксона нейрона Rpa1. Также применялась изоляция этого нейрона и аппликация окситаина. Перерезка правой, но не левой коннективы во всех случаях вызывала полное исчезновение берстовых разрядов в Rpa1 и гиперполяризацию мембраны до $-65-67$ мВ. Такое молчание этого нейрона сохранялось и после его изоляции из ганглия. Описанная перерезка не приводила к изменению берстовой активности пейсмекерного нейрона V7, локализованного в висцеральном ганглии, хотя изоляция V7 тоже уничтожает его активность. Множество контролей, проведенных автором, позволяют ему сделать предположение о том, что

локус генерации пейсмекерной активности локализован на дендритном дереве нейрона RPa1. Выдвигается гипотеза о том, что берстовая и одиночная пейсмекерная активность связаны с функционированием разных локусов на дендритном дереве, в соответствии с их электрическими связями с аксонными ветвями (Копопенко, 2000). В экспериментах Крагер (1986) при помощи фиксации напряжения на мембране сомы берстовых нейронов аплизии в соединении с внутриаксонной регистрацией исследовался вклад аксональной активности в ионные токи, которые генерируют берстовую активность. Результаты показали, что ионные токи реализовались каналами, частично расположенными на соме, частично — на аксонах.

Потенциалы действия в залповых пейсмекерных нейронах R15 аплизии сопровождаются медленными входящими и выходящими токами последействия. В опытах Lewis (1988) ставилась задача изучения роли аксо-дендритного кальциевого потока в активации этих токов последействия. Для получения этих токов применяли деполяризационную посылку при использовании метода фиксации напряжения на мембране. Опыты показали, что, хотя токи последействия зависят от Ca^{++} , они не подавлялись деполяризацией, которая превышала потенциал равновесия для кальция. Но если экстраклеточный кальций был меньше 1 мМ, большая деполяризация подавляла деполяризационное последействие. Дофамин блокирует деполяризационное последействие, если он апплицируется в аксо-дендритной области, но не действует, если апплицируется к соме. Аналогично последействие блокируется синаптически торможением большой длительности (LTI). В экспериментах, выполненных на срезах мозга морской свинки, показано, что при деполяризационном смещении МП до -45 мВ у таламических нейронов возникают высокочастотные осцилляции (20–80 Гц). Источник этих осцилляций локализуется в дендритном слое, они поддерживаются активацией кальциевых каналов определенного типа. Короткие гиперполяризационные импульсы временно увеличивают амплитуду этих осцилляций (Prosser et al., 1989).

Классификация пейсмекерных нейронов. Изолированные нейроны обычно сохраняют тот вид фоновой активности, который был для них характерен при их нахождении в естественном структурно-функциональном ансамбле нервных элементов перед выделением клетки из системы. Электрическая активность изолированных нервных клеток стабильна в течение многих часов. По виду фоновой электрической активности пейсмекерные нейроны подразделяются на нейроны с монотонной фоновой ритмикой, когда на деполяризационной волне возникает только

один спайк, и нейроны с ритмическим возникновением групп спайков (рис. 13.6). У моллюсков чаще встречается регулярный пейсмеркерный потенциал с амплитудой 5–25 мВ и периодом колебаний 1–2 с.

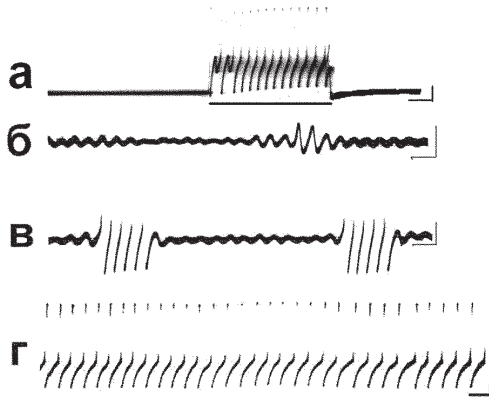


Рис. 13.6. Виды пейсмеркерной активности изолированных нейронов моллюска *Helix lucorum*: а — молчащий нейрон с латентным пейсмеркером, который активируется при действии электрического деполяризационного стимула силой 0,75 нА длительностью 5 с; б–г — актуальная пейсмеркерная активность не достигающая (б) и достигающая порога генерации потенциалов действия (ПД). Пейсмеркерные потенциалы организуют паттерны разрядов — групповые (в) и регулярные ПД (г). Калибровка: 10 мВ. 1 с.

Кроме фоновоактивных, обнаружены нейроны, у которых фоновая спайковая активность отсутствует. Однако в результате активации такой клетки в ней возникает и в течение длительного времени может поддерживаться ритмическая спайковая активность, обусловленная деятельностью пейсмеркерного механизма (рис. 13.6, а). Такой нейрон принято называть латентным пейсмеркерным нейроном в отличие от нейрона с выраженной пейсмеркерной активностью, который называется актуальным пейсмеркерным нейроном (Соколов, Ярмизина, 1972). Потенциальным пейсмеркерным нейроном называют тот нейрон, у которого в опыте пейсмеркерная активность отсутствует и ее не удается вызвать, но при известных условиях (например, сезонных) она все же может наблюдаться.

Пейсмеркер и уровень мембранного потенциала. Пейсмеркерные потенциалы чрезвычайно зависимы от уровня мембранного потенциала нейронов (Alving, 1968, Пейсмеркерный потенциал, 1975, Греченко, 2001). Отмечены две особенности: во-первых, актуальный пейсмеркер наиболее чувствителен к гиперполяризационным смещениям

мембранного потенциала (МП): в некоторых случаях достаточно сдвига менее чем на 1 мВ для того, чтобы полностью выключить генерацию пейсмекера (рис. 13.7, б). Во-вторых, уровень актуализации латентного пейсмекера может находиться выше или ниже потенциала покоя нейрона (рис. 13.8), а при де- или гиперполяризационном изменении МП проявляется взаимозависимость между несколькими клеточными осцилляторами (рис. 13.8). В основе такой связи осцилляторов лежит разная чувствительность к уровню поляризации клетки и к тем эндо-нейрональным процессам, которые ими запускаются. По-видимому, это влияние уровня МП является общим для пейсмекеров любого эволюционного уровня: подобную созависимость осцилляторов обнаружили при регистрации электрической активности парамеции (рис. 13.8, В).

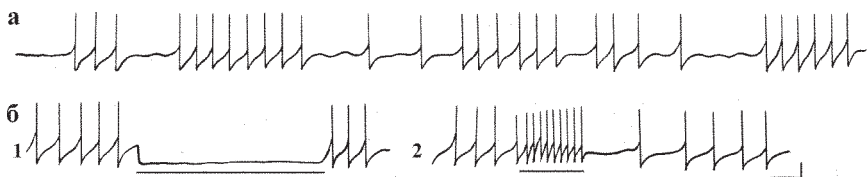


Рис. 13.7. Нерегулярная пейсмекерная активность и действие токов поляризации на пейсмекерные потенциалы: а — фоновая активность нейрона; б — действие токов поляризации — гиперполяризационного силой 0,3 нА (1) и депполяризационного той же силы (2). Длительность импульса поляризации 5 с. Калибровка: 10 мВ, 1 с.

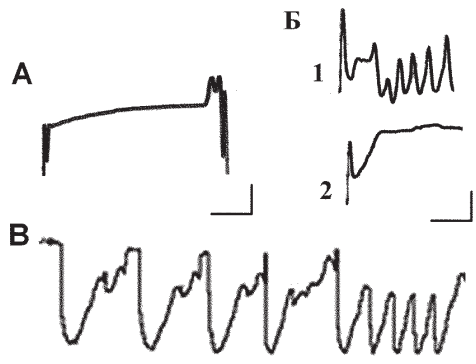


Рис. 13.8. Влияние уровня поляризации клеток на пейсмекерные осцилляции. А,Б — соотношение между уровнем депполяризации нейрона, вызываемого импульсом тока силой 1,3 нА (А), 1,5 нА (Б,1) и 1,2 нА (Б,2) и запускаемыми электрическими процессами. В — потенциал-зависимые осцилляции, зарегистрированные у парамеции. Калибровка: 10 мВ, 1 с.

Множественность пейсмекеров. Электрофизиологические исследования, проведенные на одноклеточных, показывают, что у них регистрируются пейсмекеры, отличающиеся частотными, амплитудными и временными характеристиками. Колебания мембранного потенциала могут достигать порога генерации потенциала действия (рис. 13.9). На записи можно видеть присутствие нескольких процессов, приводящих к развитию ПД, имеющих разную амплитуду (рис. 13.9, Б).



Рис. 13.9. Множественные осцилляции. А — появление разноамплитудных ПД после применения сильного внутриклеточного электрического воздействия (электрошока) (1) и после механического повреждения (2) у изолированных нейронов; Б — множественные осцилляции, зарегистрированные у парамеции, не достигающие порога генерации ПД (1) и приводящие к спайковой активности (2).

Можно предположить, что изначально пейсмекерная активность была представлена множественными процессами: на одноклеточных показано существование многих осцилляторов, которые в определенные моменты времени синхронизируются и порождают общий электрический ответ в виде ПД (Доронин и Зозулин, 1976). У одноклеточных существ механизм организации поведения — это механизм координации осцилляторов. У многоклеточных организмов, например у интактной гидры, зарегистрированы ритмические потенциалы, на частоту (1-12 кол/мин.) и место генерации которых влияют сенсорные стимулы. Каждый импульс сложный и отличается по форме, месту возникновения, происходит от одного или нескольких пейсмекеров внутри системы элементов, соединенных электрическими синапсами (Passano and

McCullough, 1962). Координированная деятельность нескольких пейсмейкеров необходима не только для организации поведения одноклеточных — в нейронах более высоко организованных существ это явление (множественность пейсмейкеров) тоже присутствует (рис. 13.9, А). Спайковая электрическая активность изолированного нейрона нерегулярна, не может быть связана с каким-либо одним ритмическим процессом. Следовательно, в ее основе лежит взаимодействие нескольких осцилляторов, и ПД возникают только при благоприятных условиях совпадения фаз и соответствующих ионных потоков, которые приводят к генерации ПД. В экстремальных условиях, например, при действии электрошока на клетку, можно получить доказательства существования в клетке нескольких осцилляторов (рис. 13.9, А). В норме у многоклеточных существ независимые пейсмейкерные осцилляторы наблюдаются редко (Мартинес-Солер, Шехтер, 1975). Результаты электрофизиологических опытов согласуются с данными, в которых посредством анализа соотношений концентрации внутриклеточного кальция и величины входящего кальциевого тока показано существование своеобразных доменов. Не исключено, что электрофизиологически такая компартиментализация клетки может быть представлена активностью пейсмейкерных компонентов (Simon and Llinas, 1985). Исследования показывают, что идея об относительно функционально независимых компартаментах нервных клеток подтверждается не только для пейсмейкеров, но и для локусов электровозбудимых и хемочувствительных мембран.

Запуск пейсмейкерной активности. Так как функции пейсмейкерной активности разнообразны, то ее активация вызывается разными причинами. Например, в опытах на нейронах полуинтактного препарата моллюска показано, что пейсмейкерная активность у молчащей клетки «оживает» в определенное время суток, такой же феномен обнаружен и у нейронов более высоко организованных животных — это пейсмейкеры, участвующие в регуляции циркадных ритмов. Найдена пейсмейкерная активность у командных нейронов моллюска, у нейронов-модуляторов, осуществляющих тонкое влияние на целые нейронные ансамбли. Активное состояние пейсмейкера может сохраняться в течение многих часов. Этот феномен лежит в основе весьма похожего явления, которое развивается при анодной поляризации и имеет большое значение для фиксации следа памяти (Греченко, Кондратьева, 1981).

Пейсмейкеры и электрическая стимуляция. При поляризации областей мозга или отдельных нервных элементов в течение нескольких секунд анодным током выключение стимула вызывает эффект после-

действия. Последействие выражено повышением или понижением фоновой активности нейронов, сохраняющимся в течение длительного времени — от нескольких минут до нескольких часов (Воронин, 1966, Gartside, 1968). Для объяснения наблюдаемого феномена привлекают идею о реверберации импульсов по замкнутым цепям. Длительность последействия, возникшего после прекращения стимуляции, — это время циркуляции ПД по определенной замкнутой последовательности нейронов. В опытах на изолированных нейронах можно моделировать ситуации, в которых происходит активация пейсмекерного механизма.

В электрофизиологическом эксперименте на полностью изолированных нейронах были проведены опыты, условия которых позволили получить длительное последействие, возникавшее после выключения стимула. Изолированные нейроны полностью исключают возможность формирования последействия за счет циркуляции нервной активности: они физически и функционально лишены возможности контактировать с другими элементами центральной нервной системы (ЦНС) и образовывать какие-либо функциональные структуры.

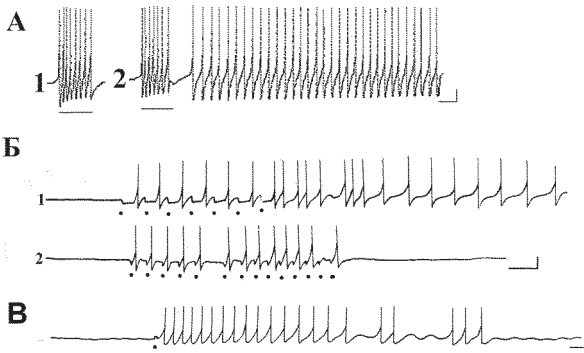


Рис. 13.10. Включение пейсмекерной активности действием внутриклеточных де- и гиперполяризационных импульсов (А и Б) и микроаппликацией нейромедиатора (В): А — включение регулярной пейсмекерной активности, достигающей порога генерации ПД, после предъявления 5 деполяризационных импульсов тока силой 1,3 в течение 2,5 с (1 и 2); Б — влияние параметров применяемых гиперполяризационных импульсов тока на включение пейсмекерного последействия: 1 — последействие, вызываемое гиперполяризационными импульсами силой 0,55 нА, длительностью 500 мс, частотой 0,5 Гц и отсутствие последействия при частоте предъявления 1,2 Гц (2); В — включение пейсмекерной активности микроаппликацией нейромедиатора АХ (длительность деполяризационного тока для аппликации 200 мс). Калибровка: 20 мВ, 1 с.

В нескольких опытах использовался гиперполяризационный электрический ток длительностью 10 с. Эффект, вызываемый применением такого стимула, заключается в том, что после его выключения возникает последствие, выраженное генерацией спайков у ранее спонтанно неактивного нейрона. В другой серии опытов эффект последствия был получен применением ритмических гиперполяризационных импульсов тока силой 0,12–0,35 нА, длительностью от 50 до 200 мс и частотой от 0,3 до 1 Гц. Длительность последствия зависит от параметров гиперполяризационных электрических импульсов. При оптимальном соотношении силы, длительности и частоты последствие сохраняется в течение 10–30 мин. Для некоторых клеток запуск длительно сохраняющейся пейсмекерной активности оказался возможным при действии одиночных или ритмичных де- или гиперполяризационных импульсов электрического тока (рис. 13.10, А, Б). Существенным оказывается как количество предъявленных импульсов, так и их длительность, сила и частота (рис. 13.10). Если параметры оказались удачными, то после прекращения стимуляции пейсмекерная активность может сохраняться в течение нескольких минут и даже нескольких часов (от 1 до 5 часов в наших опытах).

Какой нейрофизиологический механизм лежит в основе формирования постстимульного последствия? Полученные результаты согласуются с предположением Гартсайда (1979), который пришел к выводу об эндогенной природе последствия, применив ингибиторы синтеза протенинов. Все перечисленное позволяет сделать заключение о формировании эффекта последствия за счет эндогенного пейсмекерного механизма.

Существование в ЦНС нейронов, способных к длительной постстимуляционной активации, обеспечивает функциональную готовность связанных с ними элементов и выполняет функцию, приписываемую реверберации,— поддержание системы воспроизведения в активном состоянии.

Пейсмекер и синаптические потенциалы. По соотношению пейсмекерных и синаптических потенциалов нейроны подразделяются на пейсмекерные, синаптические и пейсмекерно-синаптические (Соколов и Ярмизина, 1972). Запускать генерацию колебаний мембранного потенциала могут синаптические и внесинаптические влияния.

В опытах на нейронах полуинтактного препарата или препарата изолированной ЦНС моллюска обнаружили, что запуск пейсмекерной активности происходит при активации некоторых синаптических входов (рис. 13.11). В зависимости от вида и особенностей синаптической передачи пейсмекерные потенциалы могут генерироваться в течение перио-

да от нескольких секунд до многих часов (Соколов Е. Н., Ярмизина, 1975, Gumez-Beldarrain et al., 1998, Niktarash, 2003, Parnas I., Sturmwasser, 1975). Такие же результаты были получены и в опытах на полностью изолированных нейронах виноградной улитки, что доказывает влияние нейромедиатора на запуск эндогенных осцилляторов (рис. 13.6, В). Чувствительность к медиатору у локусов, запускающих длительную активность пейсмекера или же его длительное подавление, очень высокая: по сравнению с другими хемочувствительными локусами того же самого нейрона количество эффективно действующего медиатора оказывается в несколько раз меньше. Тестирование свойств других хемовозбудимых локусов этой же сомы показывает, что лишь избранные локусы имеют такую связь: это явление селективно, связь с пейсмекером доступна только избранным хемочувствительным входам (Греченко, 2001).

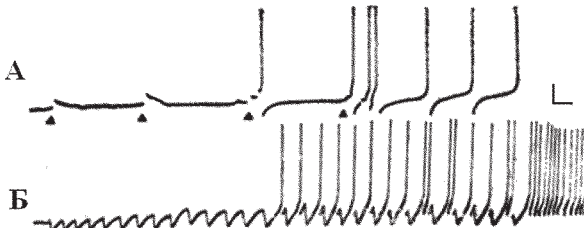


Рис. 13.11. Синаптическая фасилитация с подключением пейсмекерной активности. А — постепенное увеличение ВПСП на 1, 2, 3 и 4 стимулы. На 4 стимул возникает группа синаптических ПД с активацией в последствии пейсмекерной спайковой активности. Треугольник — нанесение одиночного тактильного стимула. Б — постепенное возрастание амплитуды ТПСП и вовлечение эндогенного механизма генерации ПД на тактильные раздражения. Калибровка: 10 мВ, 1 с. (по: Ярмизина А. Л. Пластичность нейрона // Пейсмекерный потенциал нейрона, 1975, Тбилиси. С. 87-108).

Взаимодействие пейсмекерной активности с синаптическими потенциалами может проявляться и в форме пластических изменений ответа при развитии таких феноменов, как сенситизация или десенситизация (рис. 13.12). При многократной активации одного и того же синаптического входа постепенно происходит ослабление (или усиление при сенситизации) влияния на пейсмекерную активность клетки. Многие исследователи подчеркивают значение такого взаимодействия для самых разных процессов, например, для организации ритмики мозга или ритмики клеточного ансамбля. *Есть данные о том, что синапсы, работающие на разных медиаторах, совершенно по-разному*

вливают на пейсмекерную активность, а активность нейронных систем может регулироваться разными синаптическими входами от пейсмекерного нейрона. Результат определяется свойствами синапса (Rabbah, Nadim, 2007).

У многоклеточных организмов для обеспечения адаптивного поведения формируются нейронные системы. Межклеточное взаимодействие осуществляется посредством синаптических контактов. На идентифицированных нейронах моллюсков показано взаимодействие постсинаптических потенциалов (ПСП) с эндонейрональной пейсмекерной активностью. Наиболее изученным является взаимодействие сенсорных и командных нейронов (Литвинов, 1975, Соколов и Незлина, 2007). Кроме ВПСП, в командных нейронах оборонительного поведения моллюсков регистрируется пейсмекерная активность. Командный нейрон имеет латентный высокопороговый пейсмекерный механизм (в спокойном состоянии пейсмекеры отсутствуют, но возникают при возбуждении). На изолированных командных нейронах пейсмекер включается деполяризационным смещением мембранного потенциала (МП). Пейсмекерные волны имеют частоту около 1 Гц. Если амплитуда достигает порога генерации, то возникают регулярные потенциалы действия, которые распространяются по аксону, достигают двигательных нейронов и вызывают мышечное сокращение. Кроме внутриклеточной деполяризации, включение эндогенного пейсмекера может происходить при синаптической деполяризации командного нейрона. В этом случае пейсмекерные осцилляции выступают в роли усилителя ответа нейрона на пришедшее синаптическое возбуждение и продлевают активирующее действие коротких ВПСП, обеспечивая осуществление длительного по времени сократительного движения. В опытах на изолированных нейронах показано, что между пейсмекером и ПСП существуют различные виды взаимодействия. Например, ТПСП, вызывая гиперполяризационное смещение МП, временно прерывает генерацию ПД (рис. 13.12, в). Изучение усиливающей синаптической ответ нейрона функции пейсмекера показало, что не каждый локус химической чувствительности может запускать длительную пейсмекерную активность (рис. 13.13). Только «избранные» синаптические контакты демонстрируют особое влияние на локус пейсмекерной активности. Не исключено, что именно такой тип связи между нейронами опосредуют нейроны-модуляторы, усиливающие синаптическое взаимодействие сенсорных и командных нейронов (рис. 13.14). Кроме запуска пейсмекерной активности, через изменение уровня поляризации мембраны реализуется также влияние синаптического входа непосредственно на локус пейсмекера. В этом случае генерация ПД не связана со смещением МП.

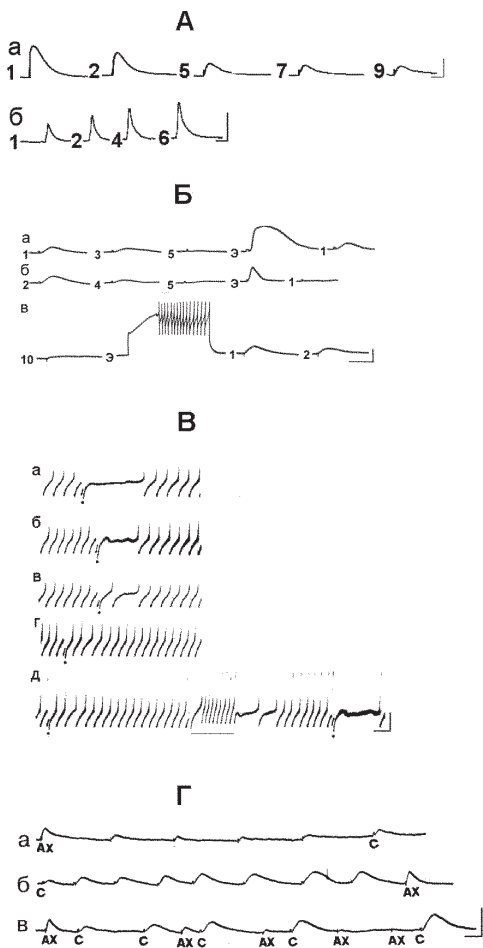


Рис. 13.12. Изменения ответов на повторные микроапликации нейромедиатора ацетилхолина (АХ): А — десенситизация при повторном предъявлении микроапликации в локус химической чувствительности. Частота предъявления АХ 1 раз в 1 мин.; б — сенситизация при предъявлении АХ с частотой 1 раз в 30 с. Калибровка: 10 мВ, с. Б — Рис. 14. Десенситизация хемочувствительной соматической мембраны при повторных предъявлениях АХ: а — первая серия, б — вторая серия. Цифры с левой стороны соответствуют номеру предъявляемого стимула, ЭС — экстрастимул. В первой серии это микроапликация большого количества медиатора в тот же самый локус химической чувствительности, во второй (б) — в другой хемочувствительный локус, в — частичное растормаживание ответа при действии внутриклеточного деполяризационного импульса силой 2,5 нА. Обозначения прежние. Калибровка: 10 мВ, 1 с. В — развитие десенситизации и растормаживание при действии внутриклеточного деполяризационного импульса тока силой 1,2 нА: а-г — ответы на 2, 4, 9, 12 предъявление

серотонина, д — отсутствие ответа на 15 предъявление С, действие внутриклеточного деполяризационного стимула (отмечено пунктирной линией) и ответ на С. Моменты микроапликации нейромедиатора отмечены точками. Амплитуда ПД полностью не прописана. Калибровка: 10 мВ, 1 с. Г — независимое развитие пластических изменений в разных локусах хемочувствительной мембраны: а — развитие десенситизации при повторном предъявлении АХ, б — развитие сенситизации при ритмичном предъявлении серотонина (С) в другой локус, в — независимое развитие пластических изменений в каждом из локусов при одновременном нанесении микроапликации АХ и С. Калибровка: 10 мВ, 2 с.

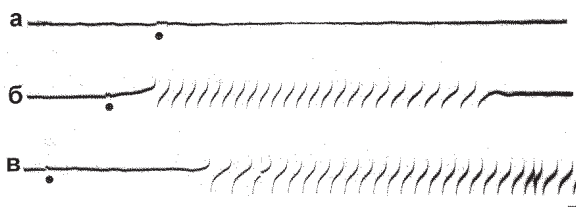


Рис. 13.13. Избирательное включение пейсмекера микроапликациями АХ в разные локусы хемочувствительной мембраны изолированного нейрона. а — отсутствие ответа при действии АХ в локус 1; б — кратковременное включение пейсмекерной активности при действии нейромедиатора в локус 2; в — активация пейсмекера и длительное сохранение его после нанесения АХ в локус 3. Калибровка: 10 мВ, 1 с.

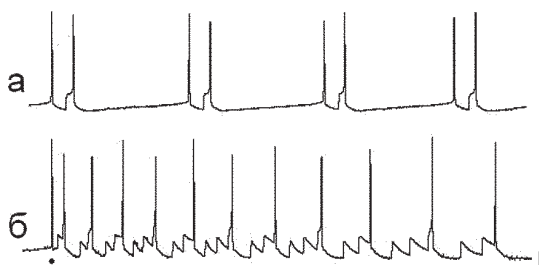


Рис. 13.14. Взаимодействие фонового пейсмекера с синаптическими потенциалами. а — фоновая активность нейрона, зарегистрированная в полуинтактном препарате моллюска *Helix lucorum*; б — ответ нейрона на тактильное раздражение, примененное в область ноги моллюска. Калибровка: 10 мВ, 1 с.

Синаптическая регуляция пейсмекерной активности. Для выяснения природы медиаторного взаимодействия между интернейроном висцерального ганглия, инициирующим пейсмекерную активность в нейроне ППа1, и самим ППа1 нейроном у улитки *Helix lucorum* Кононенко и Осипенко (1987) были проведены специальные опыты. Найдено, что стимуляция интернейрона приводила к инициации берстовой активности в нейроне ППа1. Замена экстраклеточного Ca^{2+} на Mg^{2+} , так же, как и добавление в физраствор во внешнем растворе, обратимо тормозит действие интернейрональной стимуляции на нейрон ППа1. Увеличение концентрации ионов внеклеточного Ca^{2+} до 70 мМ не предотвращает этого действия. Внутриклеточный цезий Cs^{+} и инъекция тетраэтиламмония (ТЭА) в интернейрон, увеличивающие длительность потенциалов действия, также приводили к увеличению эффективности связи между нейронами. Эти результаты позволяют сде-

лать вывод о том, что связи между неронами моносинаптические и пептидергические.

Каковы постсинаптические механизмы связи между интернейроном и нейронами, имеющими пейсмекерную активность? В опытах Кононенко и Осипенко (1987) исследовалось взаимодействие между интернейроном, запускающим берстовую активность в идентифицированных клетках ППа1 и В7. В условиях фиксации потенциала регистрировался медленный входящий ток после стимуляции интернейрона. Снижение температуры приводило к снижению скорости развития и снижения этого тока с температурным коэффициентом около 10. Снижение концентрации ионов Na^+ приводит к падению амплитуды. Был сделан вывод о том, что стимуляция интернейрона активирует по крайней мере два типа ионных каналов в соме берстовых нейронов. Предполагается, что этот процесс опосредован цепью биохимических цитоплазматических реакций.

Модуляция пейсмекерной активности и синаптические связи. В опытах Кононенко и Сторожука (1992) на нейронах моллюска *Helix pomatia* в условиях фиксации напряжения на мембране изучали действие внешней аппликации дофамина на связи между пептидергическим интернейроном, инициирующим берстовую пейсмекерную активность в неактивной клетке ППа1, и самим берстовым нейроном. Внешняя аппликация дофамина по типу доза-эффект продуцирует обратимое торможение медленного входящего тока в ППа1 нейроне, вызываемого стимуляцией пептидергического интернейрона. В то же время увеличение длительности и амплитуды интернейронных ПД наблюдались во время этой процедуры. Стимуляция анального нерва вызывает в нейроне ППа1 постсинаптический ток, состоящий по крайней мере из трех компонентов: двух быстрых с потенциалами реверсии -50 и -70 мВ и долгодлющегося с потенциалом реверсии между -50 и -95 мВ. Сделан вывод, что торможение медленного входящего тока дофамином связано с процессами, происходящими в постсинаптическом нейроне ППа1. Основываясь на гипотезе о том, что берстовая активность нейрона ППа1 является результатом активации пресинаптического неидентифицированного пептидергического интернейрона с постоянной активностью, и на основе представленных данных предполагается, что торможение берстовой активности, вызываемой аппликацией дофамина или же стимуляцией анального нерва, является следствием снижения эффективности синаптической передачи между интернейроном, вызывающим инициацию берстовой активности и собствен-

но берстером. Дофамин тормозит синаптическую передачу между интернейроном, инициирующим пейсмекерную активность, и берстовым нейроном.

Пейсмекер и чувствительность нейронов к веществам в сверхмалых дозах. Замечательным свойством пейсмекера является его чувствительность к широчайшему спектру воздействий. В эволюционном аспекте эта особенность пейсмекера понятна: впервые появившись у простейших одноклеточных, он был инструментом организации поведения, гарантировавшего выживание. В частности, это свойство пейсмекеров обеспечивает их участие в ответах на биологически активные вещества в сверхмалой концентрации (Бурлакова и др., 2004.).

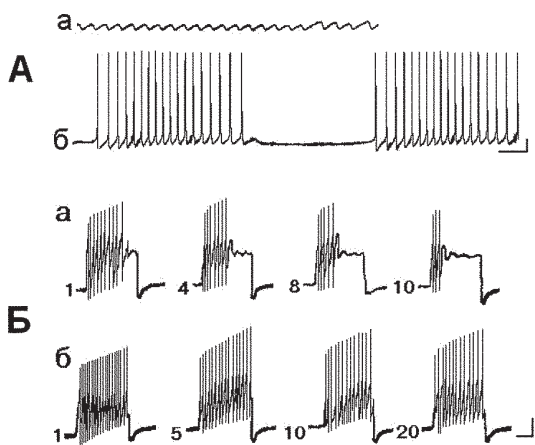


Рис. 13.15. Изменения пейсмекерной активности под влиянием сверхмалых доз этанола: А — изменение фоновой активности пейсмекера (а) под влиянием этанола в концентрации 10^{-19} М (б); Б — нарушение пластичности нейрона в этанолсодержащей среде: а — развитие привыкания при повторных применениях деполяризационных импульсов силой 0,7 нА, длительностью 3 с в нормальном физрастворе, б — нарушение динамики привыкания через 5 мин. пребывания в физиологическом растворе, содержащем этанол в концентрации 10^{-15} М. Калибровка: 10 мВ, 1 с.

В экспериментах мы применяли биологически активные вещества в необычно малых концентрациях, значительно ниже обычно используемых — от 10^{-15} М до 10^{-28} М (Бурлакова и др., 1987). Результаты показали, что все испытанные вещества: антиоксиданты, нейротранс-

миттеры, этанол, ноотропные препараты и др. — в названных концентрациях эффективны и вызвали изменение пейсмекерных ответов на тестовые стимулы (Бурлакова и др., 1986). Следовательно, основной мишенью для действия веществ в столь малых дозах является локус пейсмекерной активности (опыты выполнялись на изолированных нейронах). Некоторые нейроны отвечали включением пейсмекерного механизма или же изменением его состояния (рис. 13.15, А). Это новое состояние клетки проявлялось и в нарушении «обучения» клетки (рис. 13.15, Б). Интересно, что сверхмалые дозы биологически активных веществ вызывают изменения электрической активности и у парамеций, следовательно, их поведение в такой среде изменится.

Пластичность и пейсмекер. Структурная организация памяти любого живого существа представлена динамической организацией и реорганизацией функциональных ансамблей нервных клеток. Нейроны, составляющие системы, имеют индивидуальные свойства, которые характерны только для них. Происхождение индивидуальных свойств нейронов имеет длительную историю, в которой отражаются особенности взаимоотношений данного нейрона с «системой». Динамика этих взаимоотношений определяется свойствами конкретного нейрона и жизненными ситуациями, с которыми сталкивается организм. Реализация имевшегося или приобретение нового опыта выражена активностью нервных клеток: она и есть знание живого существа, высказанное на языке биологических процессов. Если обратиться к современным представлениям о нейронных механизмах памяти, то обнаружим, что локусом пластичности во всех исследованиях является синапс (Martin et al., 2000, Antonov et al., 2001, Соколов и Незлина, 2003). Именно с различными изменениями в области синаптических контактов связывают все наиболее изученные формы обучения: LTP, ассоциативное обучение, привыкание. Присутствие же пейсмекера хотя бы в одном нейроне формирующейся системы позволяет использовать опыт далекого эволюционного прошлого.

В изучении геноза внутриклеточных механизмов памяти весьма полезным и интересным объектом исследования могут быть одноклеточные простейшие. С одной стороны, одна клетка! А с другой, возможности этого существа удивительно многообразны. Поведение одноклеточных сложно, они обучаются, получено неассоциативное и ассоциативное обучение. Поэтому можно предполагать, что пластичность эндогенных осцилляторов одноклеточных является биологической основой обучения.

Привыкание. В лаборатории Е. Н. Соколова было показано, что повторные применения внутриклеточных импульсов электрического тока вызывают постепенное изменение реакции нейрона (Пейсмекерный потенциал нейрона, 1975). Явление получило название эндонейрональной пластичности. Предполагалось, что внутриклеточный электрический импульс активизирует пейсмекерный механизм клетки и именно его пластичность проявляется при повторных действиях тока. Но четкие доказательства эндонейронального, а не сетевого происхождения этого феномена можно было получить только на изолированной соме нейрона.

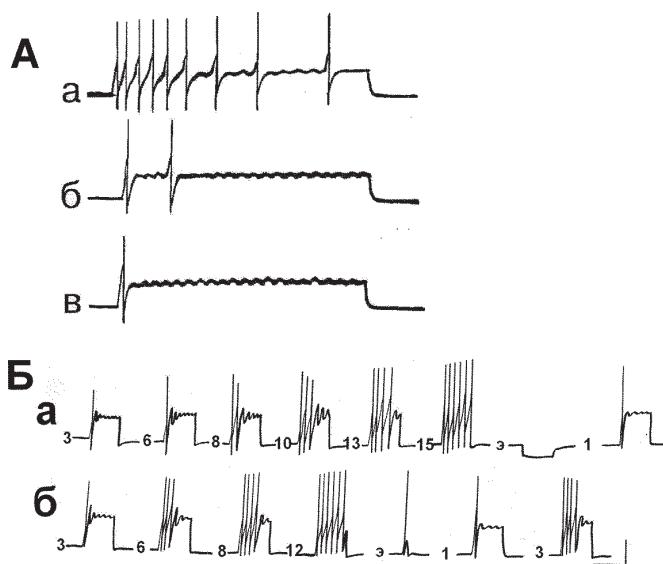


Рис. 13.16. Привыкание и фасилитация пейсмекерных ответов, возникающих при повторном применении внутриклеточных деполяризационных импульсов постоянной силы и длительности. А — привыкание к раздражению силой 0,6 нА, длительностью 5 с, частотой 1 импульс в 30 с. Показаны ответы на 1 (а), 10 (б) и 15 (в) предъявления; Б — фасилитация ответа при повторном действии деполяризационного импульса силой 1,75 нА, 1000 мс, 1 раз в 20 с: а — увеличение ответа и его восстановление экстрастимулом (гиперполяризационным импульсом длительностью 200 мс, силой 0,5 нА); б — фасилитация ответа во второй серии и восстановление ответа деполяризационным импульсом силой 1,75 нА, длительностью 500 мс. Цифры у левого нижнего угла нейрограмм соответствуют номеру стимула. Калибровка: 20 мВ, 1 с.

То, что нейроны, входящие в нейронные ансамбли, в зависимости от формы обучения демонстрируют различные формы пластичности, естественно. Эта определяемая обстоятельствами изменчивость их реакций отражает динамику взаимодействия элементов, организующих конкретную нейронную систему. Роль пресинаптического механизма в пластичности нейронных реакций изучалась на самых разных биологических моделях и животных: на срезах мозга, различных препаратах, культуре нервных клеток. Другой реальный пункт пластических изменений нейронных ответов — это сома клетки. Первая задача, для решения которой применили изолированные нейроны, заключалась в изучении изменений, которые получались в ответах нейрона при повторном применении стимула с постоянными физическими параметрами. Результаты таких опытов показали, что, действительно, развиваются явления, которые можно назвать привыканием — постепенно уменьшается исходный ответ, и фасилитацией — постепенно увеличивается исходный ответ (рис. 13.16) (Греченко, Соколов, 1979). Измененную в результате повторного применения стимулов реакцию нейрона можно было восстановить перерывом в стимуляции, причем этот интервал времени, эффективный для восстановления, возрастал по мере выполнения новых серий «обучения». Ключевым параметром для отнесения явления к классу «привыкания» является возможность растормаживания действием экстрастимулятора. В опытах эффективными для восстановления ответов оказались изменение силы, длительности и полярности внутриклеточного тока (рис. 13.16, Б). Необходимо отметить, что не любой экстрастимул оказывался эффективным для полного восстановления ответа, тем не менее всегда удавалось получить хотя бы частичное растормаживание исходной реакции нейрона. Анализируя состав компонентов, участвующих в модификации нейронного ответа, выделяем изменение числа ПД, изменение амплитуды пейсмекерных колебаний и амплитуды ПД (рис. 13.16). Более подробный анализ генеза этих процессов, выполненный при помощи замены ионного состава физиологического раствора, в котором находятся нервные клетки, позволил показать, что, как правило, пластичность достигается участием Ca^{2+} -зависимых процессов, и лишь иногда — обычно это ПД, меняющие амплитуду, — Na^{+} -зависимых (рис. 13.17). Таким образом, полностью изолированная сома нервной клетки сохраняет пластичность ответов на повторные применения внутриклеточных импульсов тока. Следовательно, процессы, которые обеспечивают пластичность, являются эндогенными по локализации и происхождению.

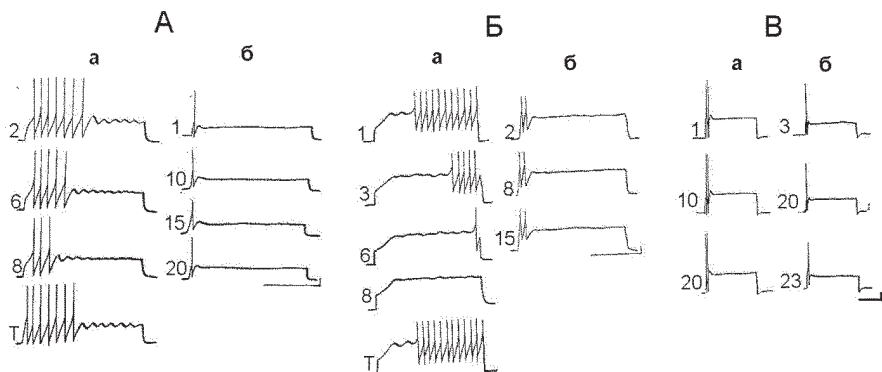


Рис. 13.17. Пейсмежер и кальций. Роль ионов кальция в пейсмежерной активности и привыкании идентифицированного нейрона ЛПаЗ к внутриклеточному деполяризационному импульсу силой 2,2 нА, длительностью 5 с: А — нейрон ЛПаЗ в состоянии 1 (с актуализацией пейсмежерной активности в начале ответа); Б — тот же самый нейрон в состоянии 2 (с пейсмежерным ответом на поздней фазе действия стимула); В — нейрон в состоянии 3 (с отсутствием пейсмежерной активации). Обозначения: а — электрическая активность нейрона в нормальном физрастворе, б — активность того же самого нейрона в бескальциевом физрастворе. Цифры соответствуют номеру предъявленного стимула. Калибровка: 10 мВ, 1 с.

Ассоциативное обучение. Опыты на изолированных нейронах показали, что *исключительное значение при формировании ассоциативных ответов приобретает интервал времени между ассоциируемыми стимулами*, в наших опытах — при сочетании микроапликации нейромедиатора с электрическим внутриклеточным раздражением от 5 мс до 150 мс. При сочетании двух электрических стимулов, наносимых через два независимых внутриклеточных микроэлектрода, локализованных в разных частях сомы, эффективными оказались интервалы от 5 мс до 500 мс (рис. 13.18). Динамика формирования условных ответов на изолированных нейронах, как правило, типична: *в каждой следующей серии требуется меньшее количество ассоциированных предъявлений, время сохранения ответа без подкрепления возрастает* (Греченко, 1984, 2001). На изолированных нейронах получены клеточные аналоги феномена «напоминания»: *после угасания условного ответа однократное предъявление раздражения, похожего на безусловный, приводит к восстановлению условной реакции* (рис. 13.18, Б).

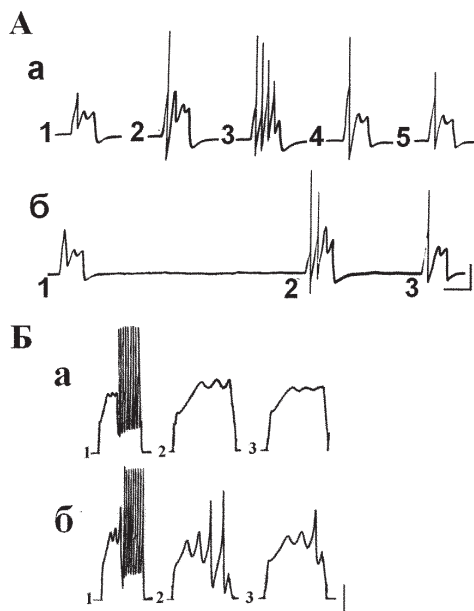


Рис. 13.18. Ассоциативное обучение изолированных нейронов на основе пейсмекерных осцилляций. А — формирование условного ответа при сочетании двух электрических внутриклеточных стимулов на изолированном нейроне Лпа2: а — создание условного ответа при действии условного стимула силой 1,8 нА, длительностью 500 мс (1), подкрепляемого электрическим стимулом силой 2,1 нА, длительностью 500 мс (БС) (2) при сочетании с интервалом между стимулами 50 мс (3). Ответы на изолированные предъявления УС через 1 и 7 мин. (4,5); б — несинхронизированное предъявление УС и БС через 40 мин. после обучения — ответ на УС (1) усиливается (3) после однократного действия БС (2). Калибровка: 10 мВ, 500 мс. Б — ассоциативное обучение неидентифицированного пейсмекерного нейрона: а — результат ассоциативного предъявления УС (1,35 нА, длительность 1000 мс) в сочетании с БС (2,5 нА, длительность 1000 мс) с интервалом между УС и БС 1000 мс (1), после 10 сочетаний (2) и через 5 мин. (3); б — условные ответы после проведения третьей серии сочетаний прежних стимулов. Показано третье сочетание (1) и ответы на изолированные УС через 13 мин. (2) и через 20 мин. (3) после завершения обучения. Калибровка: 10 мВ, 500 мс.

Обычно результат ассоциативного обучения на клеточном уровне представляют упрощенно: если «условный» стимул вызывает небольшой по амплитуде ответ, то предполагается, что обучение приведет к

увеличению его амплитуды, он достигнет порога и будет запускать ПД. Однако такое развитие событий происходит далеко не всегда, невозможно предсказать, как именно нейрон выразит свое участие в процедуре обучения. Возможны различные «превращения» исходных ответов.

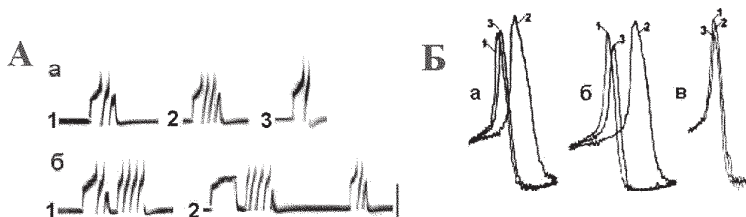


Рис. 13.19. Разнообразие способов обучения. А — развитие условного подавления ответа у нейрона Лпа3 при сочетании двух сверхпороговых стимулов. а — ответы нейрона на деполяризационные внутриклеточные раздражения до обучения: 1 — исходный ответ на условный стимул (2,5 нА), 2 — ответ на безусловный стимул (2,6 нА), 3 — ответ на тестовый стимул (2,4 нА), б — ответы после предъявления 8 сочетаний с интервалом между условным и безусловным стимулами 1800 мс, частота предъявлений 1 раз в 45 с. 1 — ответ на первое сочетание, 2 — предъявление восьмой пары стимулов и ответ на тестирующий стимул. Амплитуда ПД полностью не прописана. Калибровка: 20 мВ, 1 с. Б — изменение формы ПД при сочетании сверхпороговых электрических раздражений, предъявленных «сенсорному» нейрону.

Весьма существенна исходная эффективность сочетаемых стимулов, особенно — «условного». В реальной ситуации, когда действует биологически индифферентный стимул, это не означает, что живое существо его не замечает. Оно не знает его смыслового значения, но стимул как раздражитель, поступающий из окружающего мира, им воспринимается. опыты показали, что результат обучения в таком случае зависит от типа нейрона, от его функции в системе. Если два ассоциированных стимула, достигающих порога генерации ПД, предъявляются гигантскому идентифицированному нейрону ЛПа3, о котором известно, что это командный нейрон, то «условный» ответ заключается в постепенном вытормаживании реакции на первый из предъявляемых в паре стимулов (условный) (рис. 13.19, А). Тестирующий стимул, предъявляемый через третий внутриклеточный микроэлектрод, показывает, что эта временная депрессия затрагивает только ответ на «условный» стимул: ни тестирующий, ни «безусловный» никаких изменений не претерпевают (рис. 13.19, А, б). Динамика развития такого ус-

ловного подавления ответа типична для процесса ассоциативного обучения: в каждой следующей серии скорость развития подавления возрастает, время сохранения условного подавления увеличивается. Особенностью развития условного подавления по сравнению с положительными условными ответами является то, что межстимульный интервал может быть необыкновенно большим: в опытах показано, что эффективный интервал между условным и безусловным стимулами от 5 мс до 2000 мс! Учитывая ранее представленные результаты о независимом формировании ответов на нескольких локусах одного и того же нейрона, можно предположить, что такие своеобразные «временные ворота» являются как бы фильтром для подавления всех сверхпороговых активностей, ассоциированных с данным «подкреплением». *Положительным же эффектом наделен только подпороговый компонент, подкрепляемый сверхпороговой активностью, поступающей через определенный вход или генерируемой эндогенно, но с задержкой, не превышающей 150 мс. Все остальное — подавляется (Греченко, 2001).*

Подавлением ответа на сверхпороговый входной сигнал отвечают крупные идентифицированные нейроны (например, ЛПаЗ, ППаЗ), а мелкие клетки левого верхнего квадрата парietального ганглия, которые во многих работах идентифицируются как «сенсорные», в аналогичной ситуации отвечают совершенно иначе. Анализ ответа показал, что по мере нанесения стимулов меняется форма ПД, возникающего на первый в паре стимул («условный»). Изменение ситуации обучения, например, повторные применения стимула, не вызывали такого явления, площадь ПД сокращалась, и все ответы вкладывались один в другой, как матрешки (рис. 13.19, Б)! Увеличение площади ПД, его расширение — специфическая форма выражения обучения, свойственная только ситуации «ассоциативного обучения». В опытах использовалось также предъявление тестирующего стимула, подаваемого через специальный третий внутриклеточный микроэлектрод. Его форма не изменялась на протяжении всего эксперимента (рис. 13.19, Б).

Пейсмекер и ионы кальция. Эксперименты показывают, что состояние нейрона и возможность пейсмекерной активности участвовать в его регуляции зависит не только от наличия кальция во внутренней и внеклеточной среде, но и от соотношения его концентраций. В опытах были получены данные, которые показывают, что нейрон в бескальциевой среде фактически не генерирует пейсмекерную активность (рис. 13.17). Тестирование пластичности показало, что такие следовые

эффекты, как привыкание, фасилитация или аналог условного ответа, требуют участия кальция: в бескальциевой среде предъявление даже большого количества стимулов не вызывало каких-либо следовых преобразований реакций (рис. 13.17).

Кальциевые осцилляции — это периодические выбросы внутриклеточного кальция, а кальций-зависимые внутриклеточные процессы регулируются частотой кальциевых осцилляций (Tomida et al., 2003). Хотя функциональное значение этих кальциевых осцилляций общепризнано, механизмы, лежащие в основе их запуска и развития, требуют дальнейшего изучения. Предполагается, что роль пейсмекера в генерации кальциевых осцилляций могут выполнять передвижения ионов кальция между эндоплазматическим ретикулкулумом и митохондриями (Ishii et al., 2006). Интересно, что кальциевая природа пейсмекерных осцилляций, по-видимому, является «наследием прошлого»: в работах на простейших показано, что при дефиците кальция поведение одноклеточных резко изменяется, они теряют подвижность (Wassenberg, Clark, 1997), а осцилляторы связаны с кальциевой проводимостью мембраны (Eckert. and Naitoh, 1970).

Нейрофизиологические исследования показывают, что пейсмекерные потенциалы имеют следующие свойства: 1) пейсмекер обладает высокой чувствительностью к изменениям уровня мембранного потенциала; 2) актуализация пейсмекера связана с достижением определенного уровня мембранного потенциала; 3) пейсмекер взаимодействует с синаптическими потенциалами и может быть включенным (или выключенным) через определенный синаптический вход; 4) пейсмекерный механизм может запускаться действием биологически активных веществ в сверхмалых концентрациях; 5) пейсмекер участвует в обучении нейронов.

13.4. Пейсмекер и функции

Функциональное назначение эндогенных осцилляций различно, поэтому и рабочие режимы нейронов, требующие участия пейсмекерной активности, также отличаются. Для одних клеток активное проявление пейсмекерного механизма является нормой, например, для командного нейрона эндогенная ритмика — это способ реализации внутренней программы, определяющей будущую двигательную активность, для нейрона-модулятора — инструмент регуляции состояния целых нейронных популяций. Включаясь в определенных усло-

виях, такие пейсмекерные нейроны приводят ансамбли клеток к гармоничному взаимодействию и, следовательно, к адаптивному поведению живого существа. Другие же нейроны реализуют свой эндогенный осциллятор только в момент гибели, подавая сигнал об этом в межклеточную среду.

Результаты опытов на одноклеточных и многоклеточных показывают, что усложнение структуры и организации нервной системы, связанное с появлением синаптической передачи, не привело к вырождению или обеднению функций пейсмекерной активности, скорее, наоборот — к усилению ее значения. Эндогенная ритмика, сформировавшаяся под влиянием циклических процессов окружающей среды еще на ранних этапах появления живых организмов, наиболее надежно и адекватно «вписывает» сложные системы в быстро меняющуюся обстановку. Не случайно ход биологических часов животных различного эволюционного уровня реализуется пейсмекерными нейронами (у животных, имеющих развитый головной мозг, нейронами супрахиазмального ядра) (Hahn et al., 2006, Leznik and Llinás, 2005, Meijer J. H., Rietveld, 1989, Mieda, 2006, Rabbah P, Nadim, 2007). Поломки в функциях пейсмекеров различных мозговых структур могут приводить к заболеваниям, например, нарушение взаимодействия пейсмекеров внешнего сегмента бледного ядра с пейсмекерами базальных ядер приводит к развитию тремора (Rabbah, Nadim, 2007), процедурное обучение ухудшается при полушарных операциях на мозжечке (Gomez-Beldarrain, 1998), изменение условий для взаимодействия пейсмекеров дорзомедиальных гипоталамических ядер приводит к реорганизации пищевого поведения (Mieda et al., 2006). Дофаминовые нейроны среднего мозга, активность которых существенна для выполнения когнитивных и двигательных задач, генерируют пейсмекерные потенциалы, включение-выключение которых зависит от активности синаптических входов. Нарушение функции этих клеток приводит к развитию неврологических и психических заболеваний, таких, как болезнь Паркинсона, шизофрения и наркозависимость (Johnson et al., 2005). Нарушение функции пейсмекеров продолговатого мозга, участвующих в регуляции дыхания, вызывает развитие удушья (Ramirez JM, Garcia, 2007). В научной литературе настоящего времени накоплен колоссальный материал, демонстрирующий многогранность проявления пейсмекера в самых разных функциях живого существа и на различных этапах его жизни — от зарождения до смерти.

Пейсмекер — начало жизни

Внутренние кальциевые волны и осцилляции рассматриваются как универсальное свойство активности клетки. Как важнейший вторичный посредник, кальций запускает целый ряд клеточных реакций, включая сокращения, секрецию и экспрессию генов. Некоторые факторы чрезвычайно важны для определения того, будет ли это единичный всплеск изменения концентрации кальция или же будут инициироваться волны. Эксперименты показали, что при оплодотворении в яйцеклетке животных и растений любого вида возникает единичное или транзиторное изменение содержания кальция (рис. 13.20). У эукариотических клеток кальциевая волна стартует с повышения исходного содержания кальция в ограниченной области клетки (пейсмекерном локусе), откуда затем распространяется, приводя к глобальной кальциевой волне. У яйца глобальная кальциевая волна всегда инициируется на поверхности и затем распространяется по поверхности или через всю цитоплазму. После инициации кальциевой волны ее распространение связано с активацией кальцием же Ca^{2+} -каналов на фронте волны. На скорость распространения кальциевой волны может влиять пространственная организация мест реализации Ca^{2+} и скорость пассивной диффузии Ca^{2+} .

У яйца Ca^{2+} волны запускаются вторжением спермы, и в основном она является результатом реализации Ca^{2+} из внутриклеточных хранилищ через посредство инозитол-1,4,5-трифосфата. Механизм, лежащий в основе продукции этого вещества в клетке, остается туманным и в настоящее время активно обсуждается. Аналогично природа фактора, который содержится в сперме и под влиянием которого начинается высвобождение Ca^{2+} , остается непонятной. Некоторые исследователи предполагают, что это может быть протеин, возможно, форма фосфолипазы C или ее активатор. Кажется вполне вероятным предположение о том, что у большинства видов вхождение спермы вносит этот фактор в яйцо и этот фактор прямо или косвенно вызывает синтез (или высвобождение) инозитол-1,4,5-трифосфата (Dumollard et al., 2002).

Первая волна, которая рассматривается как « Ca^{2+} волна оплодотворения», обычно самая большая и длительная, и у некоторых видов она сопровождается повторными волнами кальция снижающейся амплитуды и меньшей длительности. Пейсмекеры Ca^{2+} волны возбуждают колебания в течение 20-30 мин. у асцидий, 45-60 мин. у некоторых моллюсков, несколько часов у млекопитающих, и они перестают действовать только в конце клеточного мейотического цикла (кроме мле-

копитающих, у которых они прекращаются через несколько часов после завершения мейоза во время формирования пронуклеуса). Пейсмерный locus может фиксироваться на поверхности или же передвигаться, когда поверхность реорганизуется для подготовки к развитию (рис. 13.20). Ca^{2+} волны пейсмеркера локализируются или в области повышенной чувствительности к инозитолу, или же располагается вблизи локального источника инозитола. Каким образом субклеточная организация высвобождения Ca^{2+} может создавать стабильные волны пейсмеркера в яйце? Это вопрос, на который еще нет ответа.

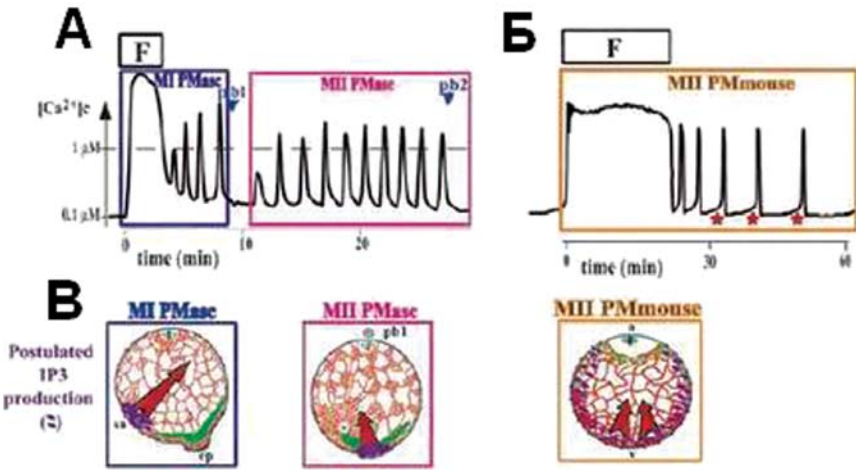


Рис. 13.20. Пейсмеркерные волны Ca^{2+} на кортикальных слоях яйцеклетки асцидии и мышцы. А — инициированные сперматозоидом волны Ca^{2+} у асцидии: мейотические волны кальция, состоящие из волны, возникшей при оплодотворении (F), сопровождаемые повторяющимися Ca^{2+} волнами, инициированными двумя пейсмеркерами (MI P Masc и MII P masc). Б — яйцеклетка мышцы оплодотворяется на метафазе II и поэтому вовлекает только пейсмеркер MII (MII P M mouse). После волны, возникающей при оплодотворении (F), начинающейся от пункта вторжения спермы, повторные волны исходят из вегетального кортекса яйца. Каждой кальциевой волне предшествует пейсмеркерный кальциевый подъем (красные звездочки). В — схематичное изображение организации сети эндоплазматического ретикулума (ER) (красное) и митохондрий (зеленое) яйцеклетки асцидии (MI P Masc и MII P Masc) и мышцы (MII P M mouse). Красные стрелки показывают направление движения волн, когда постулируется определенное место продукции $Ins(1,4,5)P_3$ (фиолетовые точки). (по R. Dumollard, J. Carroll, G. Dupont and Christian Sardet. Calcium wave pacemakers in eggs Journal of Cell Science 115, 3557-3564 2002).

У яиц млекопитающих и у асцидий большие, запускаемые спермой волны кальциевой активации пересекают яйцо при оплодотворении, сопровождаемые серией периодического повышения внутриклеточной кальциевой концентрации. Показано, что у яиц асцидии эти периодические кальциевые увеличения появляются в форме волны, источник которой перемещается примерно в течение 5 мин. в пейсмерную область. На полюсе, богатом уплотнениями эндоплазматического ретикулума, появляется место локализации пейсмейкера, из которого исходят кальциевые волны. Как только источник генерации приобретает стабильную локализацию, кальциевые волны начинают распространяться по поверхности яйца (McDougall A, Sardet C, 1995). У яиц асцидии постактивационные кальциевые волны необходимы для завершения мейоза. Их инициация прекращается перед его завершением.

Осцилляции концентрации внутриклеточного кальция время от времени запускаются гормоном созревания (как, например, у моллюсков) и обычно наблюдаются после оплодотворения, которое происходит на разных стадиях мейотического цикла клетки. У большинства изученных таким образом яиц кальциевые осцилляции продолжаются до конца мейоза и перед формированием мужского и женского пронуклеуса. Эта способность зависит от чувствительности InsP3 каналов и от проницаемости плазматической мембраны для экстраклеточного кальция. У яйца, которое испытывает цитоплазматическую реорганизацию при оплодотворении, повторные кальциевые сигналы являются волнами, исходящими от локализации кортикального локуса, который становится пейсмейкером кальциевых волн. У асцидий было идентифицировано место инициации повторных кальциевых волн как скопление прослоек эндоплазматического ретикулума между плазматической мембраной и скоплением митохондрий (Sardet et al., 1998).

Пейсмейкер — часовая стрелка эндогенных ритмов

Циркадианные часы — широко распространенный клеточный механизм, который лежит в основе различных ритмических функций организмов от бактерий до грибов, от растений до животных, и организует их метаболизм, чтобы приспособиться к смене дня и ночи на Земле (Pittendrigh, 1993, Young MW, Kay SA, 2001). Этот механизм развился у множества живых организмов (McClung, 2006). Правиль-

ное функционирование эндогенных циркадных часов дает живому существу возможность предвидеть ежедневные изменения окружающей среды и соответственно вовремя изменять поведенческие и физиологические функции. Все организмы сохраняют постоянными большое количество физиологических переменных (сон-бодрствование, локомоторную активность, температурную регуляцию, поступление еды и воды, уровень циркулирующих гормонов) под контролем циркадных часов. Существуют хорошо известные последствия прерывания циркадианной функции. Метаболизм, репродукция и даже долгожительность могут затрагиваться в неблагоприятную сторону, если определение времени дня изменяется на молекулярном уровне. Пожалуй, меньше можно сказать относительно мозга и идеи о том, что измененная функция часов может участвовать в поведенческих, нейробиологических и психических расстройствах. Циркадные ритмы проявляют все виды живых существ. Ритмичность поведения сохраняется даже в постоянных условиях, при периодах немного короче или длиннее суток, тем самым показывая, что осцилляции представляют эндогенную временную программу. У животных дневная активность измеряется обычно как активность, противопоставляемая отдыху, но существует громадное количество других параметров от поведенческого уровня до экспрессии генов, которые осциллируют с циркадным периодом. Растения проявляют множество феноменов циркадных ритмов, включая движения листьев, скорость роста, экспрессию механизмов фотосинтеза. Грибы *Neurospora crassa* создают споры каждые 22 часа в полной темноте, а прокариотические организмы — цианобактерии *Synechococcus* осуществляют несовместимые процессы фотосинтеза и азотной фиксации в разное время дня, решая проблему использования времени, а не пространства, как это делают другие цианобактерии. Устойчивые ритмы наблюдали у одноклеточных (Lakin-Thomas and Brody, 2004), у диссоциированных нейронов, выделенных из супрахиазмального ядра (Welsh et al, 1995), даже фибробласты крысы в культуре ткани демонстрировали циркадный ритм экспрессии гена (Balsalobre et al, 1998). Суточные биологические ритмы широко распространены в природе и связаны с такими сигналами окружающей среды, как свет и температура, синхронизируя внутреннее время с 24-часовым вращением Земли.

Разрушение генов циркадных ритмов у мышей-мутантов влияет на их поведение. Наконец, предполагая вклад циркадианной регуляции в

симптоматологию, исследователи изучали связь между полиморфизмом часовых генов, поведенческими особенностями и расстройствами у человека. Постепенно формируется представление о том, что генная регуляция часового механизма влияет на широкий спектр болезненных расстройств ЦНС.

При постоянном уровне затемнения и температуре организм может проявлять один или несколько циркадных ритмов в осуществлении таких функций, как локомоция, чувствительность к ядам или специфическая активность индивидуальных ферментов. Период таких ритмов обычно равен примерно 24 часам. Как правило, он точный и температурно-компенсируемый. В качестве циркадных систем могут рассматриваться как целые организмы, так и отдельные клетки, чьи выходные проявления циркадных ритмов (непосредственно наблюдаемые) должны быть результатом периодичности в работе физиологической системы. Ясно, что общая система (целая) включает в себя, кроме того, управляющий элемент. Сам он может быть или не быть периодическим. Не обязательно, чтобы его осцилляции в точности соответствовали периодичности всей системы (Pittendrigh, 1967).

Циркадианные ритмы простейших. Долгое время считали, что у прокариотов невозможно экспрессирование циркадных ритмов. Однако недавно такие биологические часы были обнаружены у некоторых видов цианобактерий. Цианобактерии являются простейшими из известных организмов, которые проявляют циркадные ритмы (Iwasaki and Kondo, 2004). Эти эндогенные хранители времени у цианобактерий контролируют экспрессию генов. Даже у цианобактерий, которые выращиваются в культуре с удвоенным течением времени (более 1 за 24 часа) циркадные часы контролируют экспрессию генов и деление клеток. В работе Johnson CH, Golden SS, Ishiura M, Kondo T. (1996) изолировали мутации циркадианного пейсмекера у цианобактерий и определяли локусы, ответственные за изменение периодичности фенотипа.

Выяснилось, что суточный ритм цианобактерий определяется циклическими реакциями присоединения фосфатных групп к определенным участкам группы белков. Исследователям удалось установить механизм работы простейшей бактериальной системы из трех белков: KaiA, KaiB и KaiC. Их взаимодействие приводит к циклическим изменениям каждого из них. Самое интересное зак-

лючается в том, что полный цикл превращений занимает одни сутки. При этом обнаруженные изменения не зависят от внешних воздействий, что в полной мере объясняет возникновение циркадианных ритмов. KaiA, KaiB, и KaiC — основные элементы циркадных часов у цианобактерий *Synechococcus elongatus* PCC 7942. KaiC репрессирует свою собственную (kaiBC) экспрессию, а KaiA усиливает экспрессию kaiBC. Поэтому KaiC и KaiA были названы, соответственно, негативным и позитивным факторами, функционирующими в обратной циркадной связи, регулирующей экспрессию kaiBC. О регуляции часовых генов через обратную связь сообщалось применительно к часовой системе эукариотов, таких, как дрозофилы, нейроспора, *Arabidopsis* и позвоночные (Young and Kay, 2001), хотя никаких дальнейших сходств между Kai протеинами и протеинами часов эукариотов не наблюдалось. Интенсивный генетический анализ, предпринятый в течение последних лет, открыл многие компоненты и молекулярные механизмы, позволяющие сравнивать эти часы. Хотя авторегуляция генетической системы является основным свойством в устройстве всех часов, свод данных поддерживает их независимое эволюционное происхождение в разных царствах (Young, Kay, 2001).

Один из самых важных вопросов исследования биологических ритмов заключается в следующем: как стабильные и точные 24-часовые осцилляции генерируются на молекулярном уровне. Хотя казалось, что возрастающая сложность является ключом, но недавние сообщения заставляют предполагать, что около 24-часовые ритмы генерируются всего четырьмя протеинами, инкубируемыми в пробирке (Roenneberg et al., 2008).

KaiA, KaiB, и KaiC — это основные протеины циркадных часов у цианобактерий. Считается, что цикл фосфорилирования KaiC, который происходит *in vitro* после смешения трех протеинов и АТФ — это и есть основной осциллятор, управляющий циркадной системой. Был проанализирован временной профиль комплексов, который формируется между тремя комплексами протеинов (рис. 13.21). На фазе фосфорилирования активируется протеин KaiA и повторно связывается с KaiC, чтобы запустить фосфорилирование KaiC. В работе исследована последовательность событий, связанных с экспрессированием белков, которые участвуют в циркадном ритме (Kageyama et al., 2006).

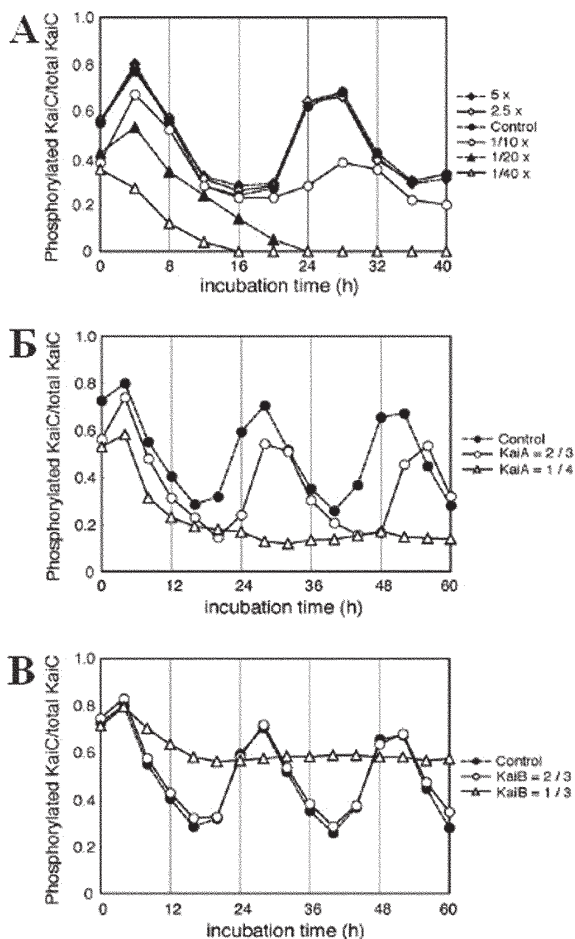


Рис. 13.21. Ритм фосфорилирования KaiC при различных концентрациях протеинов Kai. В. Относительная интенсивность сигналов фосфорилируемого KaiC, определяемая посредством денситометрии, показывает время инкубации *in vitro*. С. Ритм фосфорилирования KaiC в условиях снижения концентрации KaiA (2/3 или 1/4 концентрации стандартного раствора). Обозначения прежние. D— Ритм фосфорилирования KaiC при снижении концентрации KaiB (2/3 или 1/3 концентрации стандартной смеси). (по Molecular Cell 23, 161-171, July 21, 2006 Cyanobacterial Circadian Pacemaker: Kai Protein Complex Dynamics in the KaiC Phosphorylation Cycle *In Vitro* Hakuto Kageyama, 1 Taeko Nishiwaki, 1 Masato Nakajima, 1 Hideo Iwasaki, 1, 2 Tokitaka Oyama, 1 and Takao Kondo)

Двумя чрезвычайно важными биологическими событиями являются циркадианные ритмы и цикл деления клетки. Деление клетки происходит у всех растущих организмов, а циркадианные ритмы обнаружены у всех организмов от прокариотических цианобактерий до эукариотов, включая простейших, грибы, растения, животных и человека. Фундаментальными характеристиками циркадианных ритмов, которые определяют и отличают их от других периодических феноменов живых организмов, являются: 1) они эндогенны и генетически определены; 2) ритмы продолжаются около 24 часов при постоянных условиях, которые опосредованы условиями окружающей среды; 3) продолжительность периодов компенсируется изменениями температуры окружающей среды в широком ряду физиологически релевантных температур (Mori and Johnson, 2001).

У цианобактерий деление клетки регулируется циркадными часами. Удаление гена циркадных часов, *KaiC*, уничтожает ритмы экспрессии гена и расписание деления клетки. Сверхэкспрессия гена *fisZ* поддерживает деление клетки, но не рост, что побуждает клетку увеличиваться как филамент, без деления. Неделимая клетка все еще способна проявлять грубые приблизительные экспрессии гена циркадных ритмов. Эти результаты показывают, что циркадианное расписание системы является независимым от ритмического деления клетки и вместе с другими результатами заставляет предполагать, что циркадианная система цианобактерий стабильна и хорошо сохраняется при влиянии целого ряда внутриклеточных условий (Mori et al., 2001).

Таким образом, было показано, что экспрессия часовых генов и деление клетки осуществляется разными механизмами. Но биологические часы организуют общую регуляцию экспрессии генов и контролируют расписание деления клетки. Были идентифицированы протеины, которые могут вовлекаться в начальные пути этих процессов. Мутационный скрининг позволил определить три часовых гена, которые организованы в генный кластер. Структура цианобактериальных часовых протеинов, их фосфорилирование и регуляция также описаны. Новая модель сердцевины часового механизма цианобактерий заставляет предполагать, что ритмические изменения состояния хромосомы лежат в основе ритмов экспрессии генов. Mixed-strain эксперименты показали, что этот хранитель времени обеспечивает адаптивное значение, когда разные «племена» конкурируют друг с другом (Johnson, 2004).

У цианобактерий *Synechococcus elongatus* PCC 7942 продукт трех генов (*kaiA*, *kaiB*, and *kaiC*) был идентифицирован как основной компонент циркадных часов. Осцилляции фосфорилирования *KaiC* являются первичным пейсмекером цианобактериальных циркадных часов и открывают новые функции протеинов как устройств для измерения времени, которые управляют клеточным метаболизмом. В дальнейшем анализировали четыре аспекта цикла фосфорилирования *KaiC* *in vitro*: взаимодействие *KaiA*, *KaiB* и *KaiC*; функции двух сайтов фосфорилирования, энергетика, которая определяет циркадный период, механизм, синхронизирующий компоненты осциллятора *Kai*. Результаты этого анализа дали возможность предположить участие трех протеинов в поддержании биологического времени в живых клетках (Kondo, 2007).

Цианобактериальный циркадный осциллятор может быть реконструирован *in vitro* посредством смеси чистых протеинов *KaiA*, *KaiB* и *KaiC*, with АТР. Ритм фосфорилирования *KaiC* сохраняется по крайней мере в течение 10 дней без изменений. Смешивая осцилляторные образцы, имеющие разные фазы, и анализируя динамику их фазовых соотношений, мы обнаружили, что отчетливость ритма фосфорилирования *KaiC* восходит к быстрой синхронизации состояния фосфорилирования и направления реакции (фосфорилирование или дефосфорилирование) протеина *KaiC*. В дальнейшем было показано, что синхронизация тесно связана с дефосфорилированием *KaiC* протеина и опосредована изменением мономера между *KaiC* hexamers на ранних стадиях фазы дефосфорилирования. Этот автономный механизм синхронизации, вероятно, является основой для resilience цианобактериальной циркадной системы против количественных флуктуаций часовых компонентов во время таких событий, как клеточный рост и деление (Ito et al., 2007).

Температурная независимость часов. Эндогенная суточная активность наблюдалась у живых организмов всех типов от микроорганизмов до млекопитающих, и была доказана эндогенная природа этих ритмов. Интерес к этим ритмам стимулировался исследованиями Фриша, Крамера, Парди и Папи. Они показали, что небесная навигация пчел, птиц и пресмыкающихся, скорее всего, осуществляется по биологическим хронометрам эндогенного типа. Подозрения, что в качестве органа времени используется эндогенная ритмика, подкрепляются наблюдениями температурной независимости пери-

одов этих ритмов. Поясним: если ритм является генератором времени по своей сути, то его скорость должна быть независимой от температуры внутри экологического предела. Температурная независимость системы часов у пойкилотермных животных была показана еще в 1932 году Уоллом на пчелах. Браун и Вебб показали температурную независимость ритмов у крабов и моллюсков, а Питтендрич нашел независимость ритма *eclosion* у дрозофилы. Рао нашел то же самое для приливно-отливного ритма у мидии. Последние работы на растениях показали их аналогичную нечувствительность периодов к температурному режиму. В 1948 году Пол показал, что одноклеточная подвижная зеленая водоросль имеет эндогенный ритм, но не исследовал температурную характеристику этого ритма. В этом исследовании сообщается о температурной независимости ритма эвглены.

Новые данные открывают возможность для предположений о том, что молекулярный механизм циркадных часов у *Synechococcus elongatus* составлен из множества осцилляторных систем, как это было описано для моделей часовых механизмов эукариотов. Но альтернативная интерпретация состоит в том, что пейсмейкерный механизм, как это предполагалось прежде, лежит, прежде всего, в скорости гидролиза АТФ посредством часового протеина KaiC (Brunner M, Simons MJ, Meggow M., 2008). Хотя цианобактериальные часы имеют все те же самые фундаментальные свойства, что и эукариотические часы, их компоненты не гомологичны тем, которые обеспечивают измерение времени у животных, растений и грибов. Более того, вероятно, их механизм сильно отличается от описанного у модели эукариотических часов. Картина того, как обеспечиваются механизмы измерения времени у прокариотов, включает следующее: мультипротеиновая, мультимерная молекулярная машина создает протеины, домены которых демонстрируют скручивание *common themes*. Передача сигнала в и вне сердцевины часов, по-видимому, происходит через гистидинпротеинкиназную основу фосфорилирования ветвей (Golden, 2003).

Циркадианные ритмы моллюсков. Одна из первых работ, в которой был зарегистрирован циркадианный ритм на уровне работы отдельного нейрона, — это исследования Штрумвассера (1975) на моллюске аплизии. При регистрации в изолированном париевовисцеральном ганглии аплизии было обнаружено, что нейрон R15 имеет цирка-

дианный ритм спайковой активности. Ритм обнаруживается *in vivo* при цикличности света и темноты. Фаза ритма у R15 является функцией не только от действия светового расписания, но также зависит от времени отсечения ганглия. Изменение времени отсечения ганглия во время света в цикле свет-темнота приводит лишь к незначительным изменениям в последующих пиках достижения максимума или минимума активности у R15. Отсечение ганглия во время темного периода приводит к смещению пика, который изменяется в зависимости от времени отсечения ганглия. Циркадианный ритм R15 может быть фазово-сдвинутым при помощи фазы включения цикла свет-темнота от одной до двух недель. Нейрон R15 у ослепленной аплизии, однако, не демонстрирует никаких фазовых сдвигов во времени. Делается вывод о том, что глаза важны для рецепции фотовоздействий, направленных на ритм нейрона R15 *in vivo*, но нейронные связи от от глаз к R15 не требуются (Audesirk and Strumwasser, 1975).

Генетика и циркадианные ритмы. Предположение о генетической основе свободно текущих циркадианных ритмов возникло еще в 1932 году (Bünning, 1932). Множество примеров клеточных циркадианных систем подтверждает, что часы — это не просто эмерджентное качество сложной (мультиорганной) системы: оно основано на особых свойствах индивидуальных клеток. Работы на мутантах *Drosophila melanogaster* позволили открыть часовой ген (Konopka and Benzer, 1971). С тех пор были идентифицированы многие часовые гены, например, на мышах, *Xenopus*, *Arabidopsis* и *Synechococcus* (Mergow et al., 2005, McClung, 2006).

13.5. Пейсмекеры супрахиазмального ядра

Супрахиазмальное ядро (СХЯ) гипоталамуса является центром циркадианной системы в мозге позвоночных. Через нейронные и гуморальные выходы СХЯ может организовывать ряд физиологических и поведенческих ритмов всего тела. Удивительно, что циркадные ритмы порождаются не многоклеточными сетевыми свойствами, а фактически генерируются клеткой автономного уровня. Эндогенные часы основательно зашифрованы на молекулярном уровне посредством сцепления авторегуляторной транскрипционной и трансляционной петли обратной связи внутри каждой клетки. Такие же координированные циркадианные ритмы были идентифицированы в ряде типов клеток, тканей и органов всего тела. Эти наблюдения также применимы к

широкому ряду областей ЦНС, включая обонятельные луковицы, гипофиз, эпифиз, аркадные ядра, сетчатку. Важно, что было показано: эти ритмы не внешне управляются выходами СХЯ, а время или фаза, в которую ген продуцирует пик, часто является специфичным для области мозга.

Помимо генерирования четких ритмов, циркадианная система может быть чувствительна к внешним влияниям и способна регулировать свои фазы, чтобы синхронизироваться с превалирующим ритмом день/ночь. У млекопитающих сигнализирование предъявленного света, выполняемое афферентами сетчатки, является самым важным запускающим сигналом часов СХЯ. Однако другие сигналы, такие, как наличие пищи, новая окружающая среда или социальные взаимодействия, могут действовать как знаки. Эти знаки достигают СХЯ по различным нейротрансмиттерным, нейромодуляторным или гормональным путям и могут перезапускать фазу экспрессии через авторегуляторную петлю обратной связи. Часы не-СХЯ могут быть непосредственно чувствительны к внешним воздействиям. Наиболее очевидным примером является сетчатка. Окончательный уровень сложности и тонкой настройки молекулярного ритма может определяться через локальные переговоры между часами ткани и ядер.

Для того чтобы молекулярные ритмы имели влияние на физиологию и поведение, они должны обращаться к соответствующим выходам. Это достигается сложной пространственно-временной регуляцией экспрессии гена, который влияет на клеточно-тканевые специфические функции. Настроенная экспрессия ряда так называемых часовых генов затем определяет временную регуляцию ритмов мозга и периферических тканей. Это может приобретать форму изменения выделения гормона, изменения скорости генерации потенциалов действия, изменять скорость клеточного метаболизма (рис. 13.22).

Все перечисленное выше указывает на то, что генерация суточных ритмов в поведенческих и физиологических функциях вместе со способностью интегрировать ряд *environmental* входов подразумевает сложное устройство циркадианной системы. И очевидно, что эта система подразумевает действие многих генов. Более того, новые генетические факторы, которые влияют на циркадианные параметры, продолжают определяться посредством мутагенетического скриннинга, изучения взаимодействия протеинов и др. (Barnard, Nolan, 2008).

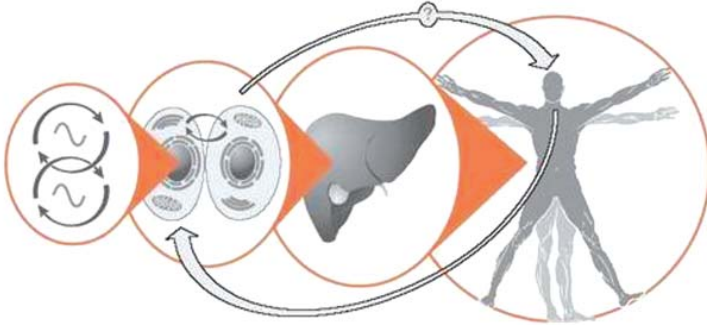


Рис. 13.22. Циркадная система у животных организована иерархически. Молекулярные осцилляции генерируются на клеточном уровне, на котором часовые компоненты включают петлю обратной связи транскрипции-трансляции и, возможно, метаболическую регуляцию проводящих путей (слева). Органные или периферические часы развивают координированный ритм, который синхронизируется относительно пейсмекера мозга. Наиболее очевидным проявлением такой системы времени является цикл сон-бодрствование, но сотни параметров — от когнитивных функций до уровня циркуляции гормонов — также изменяются в течение 24 часов. Связь между мозгом и осцилляциями периферии была доказана, и эту связь можно прервать. (по The circadian cycle: daily rhythms from behaviour to genes First in the Cycles Review Series *Martha Merrow*¹, 2, *Kamiel Spoelstra* & *Till Roenneberg*² *EMBO reports* VOL 6. NO 10. 2005. P.p. 930-934).

У большинства млекопитающих ряд часовых генов и протеинов формируют регуляторную систему, которая продуцирует осцилляции циркадианного периода — 24 часа. Молекулярные и физиологические ритмы координируются с суточными изменениями окружающей среды посредством доминирующего циркадианного пейсмекера, СХЯ гипоталамуса. Нейроны СХЯ эндогенно генерируют циркадианный ритм и приспособливают его к смене циклов день-ночь окружающей среды. Примерно 20000 нейронов СХЯ варьируют по способности чувствовать «ключи» времени по определенным признакам, по нейротрансмиттерам, к которым они имеют чувствительность, по свойствам их связей. Желание понять, как такая гетерогенная сеть продуцирует когерентный синхронный циркадный выход, является мотивом для проведения экспериментальных и теоретических работ.

Хотя все циркадианные системы составлены из клеточных часов, существуют большие различия в их составе. Например, у растений циркадианные ритмы соседних клеток, по-видимому, идут в независимых

фазах, а у животных они формируются на основе внутренне связанных иерархических систем (рис. 13.23). Открытый пейсмейкер принадлежит нервной системе, которая получает информацию из окружающей среды о состоянии и о времени (например, сумерки или рассвет), обрабатывает их и передает эти сведения через эндогенную сигнализацию на периферию, поддерживая скоординированное время (например, печени, сердцу, почкам). Пейсмейкер млекопитающих расположен в супрахиазменном ядре гипоталамуса. Так клеточные часы всего тела синхронизируются относительно «главных часов» и друг друга, хотя не обязательно, чтобы они имели одну и ту же фазу. Молекулярные осцилляции СХЯ мыши, постоянно находящейся в темноте, например, сдвинуты вперед относительно печени примерно на 4-6 часов (Balsalobre et al, 2000). Более того, молекулярные часы печени при помощи особого расписания питания могут быть «отвязаны» от ритма, определяемого СХЯ.

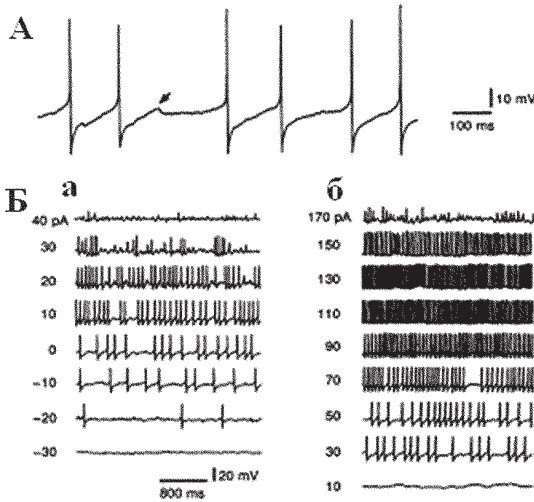


Рис. 13.23. Спонтанные и антидромные потенциалы действия нейронов супрахиазменного ядра. А — спонтанные потенциалы действия. Заметно, что деполяризационный препотенциал предшествует каждому ПД и что один препотенциал не достигает порога (отмечен стрелкой). Ва, Вб — частота и паттерн разрядов ПД изменяются в зависимости от удерживаемого на мембране тока в двух различных клетках. Ва и Вб имеют потенциал покоя -52 и -59 мВ и максимум I_h от 0 до 45 пА соответственно (по Zhi-Gen Jiang, YuQin Yang, Zhao-Ping Liut and Charles N. Allen Membrane properties and synaptic inputs of suprachiasmatic nucleus neurons in rat brain slices Journal of Physiology 1997, 499.1, pp. 141-159).

Изолированные нейроны СХЯ. Супрахиазмное ядро гипоталамуса содержит первичные циркадианные часы млекопитающих. Диссоциированное на клетки СХЯ в переживающей культуре проявляют циркадианную модуляцию спонтанной электрической активности. Чтобы выявить присутствие различий в циркадианной фоновой активности нейронов, изолированных из СХЯ без синаптических связей, одна клетка исследовалась в течение 3-4 дней после изготовления препарата, до формирования дендритов, аксонов и синапсов. Различия фоновой активности в цикле день-ночь были обнаружены у изолированных нейронов СХЯ. В течение первого субъективного дня средняя частота разрядов ($0,87 \pm 0,12$ Гц) была значительно выше, чем в течение первой субъективной ночи ($0,24 \pm 0,12$ Гц). А скорость разрядов на следующий день была значительно выше, чем в течение предыдущей ночи. Эти данные заставляют предполагать, что популяция изолированных нейронов из СХЯ с отсутствующими синаптическими контактами содержит функционирующие циркадианные часы (Kononenko et al, 2008).

В работе Klisch et al. (2006) исследовалось поведение диспергированных клеток СХЯ 1-2-дневных крыс, культивируемых в мульти-микроэлектродном массиве. Нейроны СХЯ идентифицировали по иммунной метке нейропептида аргинин-вазопрессин и вазоактивного интестинального полипептида. Одиночный нейрон СХЯ может экспрессировать паттерн скорости разрядов в разных циркадианных фазах. В этой культуре редко наблюдался синхронизированный паттерн разрядов. Это заставляет предполагать, что в культуре низкой клеточной плотности нейроны СХЯ функционируют как независимые пейсмекеры. Чтобы изучить, всегда ли на независимые пейсмекеры можно повлиять посредством фазово-сдвинутых стимулов, применили мелатонин ($10 \mu\text{M}$ к 100 pM) в течение 30 мин. на разных циркадианных фазах и проводили постоянное наблюдение за ритмами частоты разрядов. Мелатонин мог вызывать ответы фазово-сдвинутые в отдельных часовых клетках, у которых не было входов от других нейронов. У некоторых клеток обнаруживался фазовый сдвиг ответов во втором или третьем цикле после применения мелатонина, но не в первом цикле. Фазовый сдвиг изолированных нейронов СХЯ также наблюдался, когда СХЯ не проявляло чувствительности к этим фазово-сдвинутым стимулам при регистрации от мозговых срезов. *Эти данные показывают, что нейронные сети играют существенную роль в контроле фазовых сдвигов (Klisch et al., 2006).*

В культуре ткани регистрировали активность нейронов из СХЯ в течение дней и даже недель. Были выявлены четкие циркадианные

ритмы в скорости разрядов этих нейронов (Welsh et al., 1995). Несмотря на обилие синапсов, циркадианные ритмы, экспрессируемые нейронами в той же самой культуре, не были синхронизированы. После обратимой блокады нейронных разрядов в течение 2,5 дней циркадианные ритмы нейронных разрядов возобновлялись без изменения фазы. Эти результаты заставляют предполагать, что СХЯ содержит большое количество автономных циркадианных осцилляторов, находящихся в отдельных клетках, а синапсы, которые формируются *in vitro*, не являются ни необходимыми для деятельности этих осцилляторов, ни достаточными для их синхронизации.

Роль ионов в работе пейсмекеров СХЯ. Отдельные нейроны супрахиазменного ядра способны функционировать как автономные часы и генерировать циркадианные ритмы, экспрессируя гены, которые формируют молекулярные часы. Существует мало данных о том, как координируются эти молекулярные осцилляции в отдельных часовых клетках, чтобы обеспечить согласованную ритмичность, которая обычно наблюдается в целостном СХЯ. Предполагается что кальциевый ток, проходящий через вольт-зависимые кальциевые каналы, играет важную роль в регуляции экспрессии генов и синхронизации ритмичности в популяции клеток СХЯ. В опытах Nahm et al. (2005) на культуре клеток СХЯ мозга крысы исследовалось влияние кальция на экспрессию и циркадианную регуляцию различных субъединиц вольт-зависимых кальциевых каналов. Клетки СХЯ крысы и клетки культуры показывали экспрессию mRNA для всех основных типов субъединиц альфа-кальциевых каналов. Для других типов субъединиц были показаны наивысшие уровни для L-субъединиц, наименьшие для R и N-каналов. Кальциевые каналы вовлекаются в регуляцию молекулярной ритмичности, и это исследовалось на клетках культуры при помощи неизбирательного антагониста кадмия. В клетках, обработанных кадмием, исчезал осцилляторный паттерн гена *Per2* и *Per1*. При этом не затрагивалась клеточная морфология и *viability*. Эти данные поднимают вопрос том, что циркадианная регуляция активности кальций-зависимых каналов может играть важную роль в сохранении ритмичности часовых генов в ансамбле СХЯ осцилляторов (Nahm et al., 2005).

Нейроны СХЯ проявляют циркадианные ритмы в частоте генерации потенциалов спонтанной активности и в транскрипции основных часовых генов, включая *Period1* (*Per1*). Ранее было показано, что K^+ ток критичен для экспрессии нейрофизиологической ритмичности. В работе Pitts et al. (2006) исследовалось влияние общей проводимости

активируемых Ca^{2+} K^{+} каналов (BK) на ежедневную ритмичность нейронов СХЯ. Рассматривалось влияние BK-тока на *Per1* у помеченных GFP нейронов при использовании фиксации напряжения и при блокаде работы BK-каналов специфическим блокатором *iberiotoxin*. BK-ток составляет большую часть выходящего тока клетки во время ночи, но не днем. Амплитуда и плотность BK-тока выше во время ночи, а разница в стабильном состоянии амплитуд день/ночь не связана с избирательной инактивацией. Показано специальными методами присутствие копии BK-каналов *KCNMA1* в *Per1*-экспрессируемом нейроне. В дальнейшем опыты показали, что *KCNMA1* mRNA ритмически экспрессируется в СХЯ под влиянием света. Острое торможение BK-тока сглаживает циркадианные ритмы по частоте нейронных разрядов СХЯ. Эти результаты показывают, что функция BK-каналов возбуждается ночью, тем самым изменяя нейронную активность СХЯ (Pitts et al., 2006).

Пейсмекеры СХЯ в культуре ткани. Органотипические срезы СХЯ и нейроны СХЯ в культуре высокой плотности экспрессируют координированную ритмическую активность в течение всего периода их жизнеспособности (от нескольких недель до нескольких месяцев), (Aton et al., 2005). Нейроны СХЯ в низкодисперсной культуре не проявляют координированной активности, а экспрессируют широкую вариацию их свободнотекущих периодов (Welsh et al., 1995, Honma et al., 2004). Это приводит к выводу о том, что нейроны СХЯ сохраняют собственные циркадианные осцилляторы, которые нуждаются в синхронизирующем сигнале, чтобы продуцировать когерентный выход (рис. 13.23). Среди кандидатов в синхронизирующие факторы нейропептид вазоактивного интестинального полипептида (VIP), gastrinreleasing peptide (GRP), prokineticin и нейротрансмиттер GABA (Liu et al., 2000). В работе этих авторов показано, что индивидуальные часовые клетки СХЯ могут синхронизоваться при помощи тормозного трансммиттера ГАМК. В опытах на культуре клеток было показано, что суточные изменения чувствительности СХЯ к фазово-сдвигающим агентам проявляются на уровне отдельных нейронов. Более того, GABA, действующая через рецепторы А-типа, может и сдвигать фазы, и синхронизировать часовые клетки. Это означает, что GABA является существенным синхронизатором нейронов СХЯ *in vivo*. На роль синхронизаторов также претендует G-белок. Предположение о взаимозависимости, согласно которому нейротрансмиттер высвобождается циркадианным способом и действует через обратную связь на часы, было продвинуто мно-

гими авторами (Maywood et al., 2006, Aton et al., 2005). В работах анализировали последствия направленного прерывания транскрипции генов, кодирующих VIP или же его рецептор VPAC2. В обоих случаях не только терялась синхронность в работе клеток СХЯ, но и большая часть нейронов СХЯ начинала работать асинхронно. Аналогично, торможение натриевых каналов при помощи тетродотоксина (ТТХ) десинхронизировало и подавляло осцилляторную активность часовых нейронов (Yamaguchi et al, 2003). Опыты показывают, что активность нейронной мембраны играет чрезвычайно важную роль в проявлении внутриклеточных ритмов и координации нейронных часов (Lundkvist, Block, 2005). Lundkvist and Block (2005) считают, что события, происходящие на нейронной мембране, играют важнейшую роль в проявлении циркадианных ритмов у моллюсков и млекопитающих. У млекопитающих супрахиазмное ядро гипоталамуса получает световую информацию через ретиногипоталамический тракт. Сетчаточные сигналы, опосредованные глутаматом, вызывают высвобождение кальция и активируют ряд внутриклеточных каскадов, вовлеченных в фотоправление и фазовый сдвиг. Мембранные процессы также вовлекаются в экспрессию ритма. Кальциевый и натриевый токи влияют на электрический выход пейсмекерных нейронов, изменяя форму и интервалы между импульсными препотенциалами, периодами следовой гиперполяризации и межспайковые интервалы, также влияя на мембранные потенциалы и таким образом формируя паттерн спайковой ритмичности. Несмотря на вовлечение мембранных событий в циркадианные проявления и экспрессию, менее ясно всегда, ли электрическая активность, постсинаптические явления, трансмембранные ионные токи также являются существенными элементами в генерации ритмов. Однако данные позволяют предполагать, что на самом деле решающую роль в генерации циркадианных ритмов играет активность нейронных мембран.

Молекулы и транскрипция. Опыты показывают, что только СХЯ способно к эндогенной самосохраняющейся ритмичности и функционированию в качестве задавателя ритма, навязывая ритмические свойства другим клеткам, хотя периферические ткани и иммунные процессы могут периодически экспрессировать ритмические осцилляции в часовых генах. Чтобы по-разному исследовать молекулярные элементы, необходимые для различных ритмо-генерирующих и пейсмекерных свойств СХЯ, действие antisense — торможения на экспрессию часовой ритмичности по выходу 2-deoxyglucose и экспрессии гена Per срав-

нивалась с экспрессией клеток СХЯ, находящихся в культуре ткани. Исследования показали, что часы по-разному включаются в генерацию молекулярных и метаболической ритмичности и в регуляцию специфических пространственных выходов, которые контролируют ритмические процессы в NIN/3T3 клеток (Allen et al., 2004). Активность отдельных нейронов и утилизация глюкозы исследовалась на СХЯ срезах золотистых хомячков (Shibata, Mooge, 1988). Наблюдались четкие циркадные ритмы и в активности нейронов, и в утилизации глюкозы. Эти наблюдения показывают, что срезы мозга могут оказаться полезными для анализа пейсмекерной функции нейронов СХЯ.

Чувствительность к нейромедиаторам. СХЯ — это основной центр генерации ритмов в ЦНС. На срезах мозга регистрировали активность отдельных нейронов. Тестировались ответы нейронов на различные гормоны и нейромедиаторы (дофамин, серотонин, карбахол (антагонист АХ). Серотонин действовал на более чем 40% нейронов, примерно в равном количестве активировал и тормозил. Карбахол вызывал торможение примерно половины зарегистрированных нейронов (49,5%), а возбуждал только 10,3% из общего числа 137 зарегистрированных нейронов. Дофамин возбуждал почти 50% нейронов в присутствии некоторых гормонов (Hsieh, Pan, 1990). Для пейсмекерной активности СХЯ необходим экстраклеточный Ca^{++} и синаптический вход. Опыты Mirmiran et al. (1995) показали, что биологические часы млекопитающих представляют из себя гетерогенную нейронную систему, в которой циркадианный пейсмекерный ритм генерируется и модулируется через сложное взаимодействие между клетками СХЯ.

В экспериментах Noppta et al. (2000) при помощи мультиэлектродного устройства одновременно регистрировалась активность от 4-8 нейронов, а межнейронные взаимодействия исследовались при помощи кросс-корреляционного анализа спонтанных потенциалов действия. У пар нейронов, проявляющих синхронизированные циркадианные ритмы, были определены функциональные связи. Когда связи разрывался, ритм разрядов десинхронизировался. После длительных воздействий тетродотоксином кросс-корреляции и синхронизация циркадианного ритма уничтожалась у большего числа нейронных пар. Результаты показывают, что за синхронизацию циркадианных ритмов отдельных нейронов СХЯ ответственны механизмы, включающие зависимость коммуникации от Na^{+} -каналов,

В опытах, проведенных Zhi-Gen Jiang с соавторами (1997) на срезах мозга крысы, регистрация электрической активности нейронов про-

водилась в разное время суток. Результаты опытов показали следующее: в среднем входная емкость нейронов, зарегистрированных вблизи субъективного «рассвета», была на 42% выше, чем у нейронов, зарегистрированных вблизи субъективных сумерек. Ток, необходимый для поддержания поляризации нейронов на -60 мВ, имел пик в середине субъективного дня и минимум в середине субъективной ночи. Эти результаты показывали, что по крайней мере два вида ионной проводимости участвуют в генерации циркадианного ритма. Фиксация напряжения на мембране нейрона показала, что имеются входящие и выходящие постсинаптические токи. Выходящий ток блокировался бикуккуллином и не блокировался стрихнином. Он был определен как ТПСР, опосредованный GABA_A рецепторами. Входящий ток блокировался 6-суано-7-nitroquinoxaline-2,3-dione (CNQX) и был идентифицирован как ВПСР, опосредованный глутаматом. Стимуляция оптического нерва или хиазмы вызывала моносинаптический ВПСР, который опосредован и NMDA, и nonNMDA рецепторами. У 13% клеток стимуляция оптического нерва вызывала выходной ток или входной ток, сопровождавшийся выходящим током. Все вызванные токи блокировались бикуккуллином, что предполагает наличие участия тормозного интернейрона.

Распределение нейронов в СХЯ. Для выяснения структуры мультиосцилляторной циркадианной организации СХЯ исследовалась региональная специфичность дорзальной и вентральной областей СХЯ. Циркадианные ритмы реализации аргинин вазопрессина (AVP) и вазоактивного интестинального полипептида и электрическая активность нейронов измерялась у органотипической статической культуры срезов СХЯ, полученных от новорожденных крыс. Через 5 дней от начала культивирования четкие циркадианные ритмы были определены по реализации AVP с пиком, локализованным постоянно на середине исходной световой фазы, хотя 24 - профили реализации VIP были или аритмичными, или ритмичными. В последнем случае фаза, отсроченная на 5-7 часов, наблюдалась в циркадианном пике ритма AVP. Мультиканальная экстраклеточная регистрация 51 из 67 нейронов, исследованных в СХЯ, продемонстрировала циркадианные ритмы в скорости разрядов. Процент ритмических нейронов был значительно выше в дорзальном (86,8%), чем в вентральном (62,1%) районе СХЯ, где доминировали нейроны, содержащие AVP и VIP. 27% ритмичных нейронов были почти в антифазных отношениях большинства ритмов. Не обнаружено региональной специфичности в распределении антифазных

ритмов. Эти данные показали, что дорзальные и вентральные области СХЯ содержат циркадианные пейсмекеры с разными свойствами, которые регулируют высвобождение VIP и AVP отдельно, что, вероятно, связано с различием в числе, а отсюда и в совокупной силе осциллирующих нейронов (Nakamura et al., 2001).

Возраст и часы. Влияние возраста на нейронную активность СХЯ исследовалось на хомячках, которых содержали или в условиях смены света и темноты, или же в условиях постоянного освещения. Периоды свободного передвижения в круговороте ритмов 24-месячных хомячков были короче, чем у 2-месячных. Была и значительная разница в средней частоте разрядов нейронов СХЯ у старых и молодых хомячков в течение субъективного дня (6,58 +/-0,36 спайк/сек. у молодых и 5,63 +/-0,27 у старых), но не в течение ночи. Сходным образом в условиях постоянного освещения скорость разрядов у старых хомячков поддерживалась на уровне условий свет-темнота и была значительно ниже, чем у юных животных. Эти результаты показывают, что ухудшение активности нейронов СХЯ у старых животных является проявлением снижения активности в дневное время. Это может отражать изменения во взаимодействии между СХЯ часами и очевидными изменениями поведенческих и пейсмекерных свойств пейсмекерных нейронов СХЯ (Watanabe et al., 1995).

Супрахиазмальное ядро гипоталамуса — главный циркадианный пейсмекер, или часы мозга млекопитающих. Каноническая теория придерживается взгляда, что выход от этих единственных доминирующих часов ответственен за управление большинством суточных ритмов в физиологии и поведении. Но последние данные подвергают сомнению единственность этой модели и демонстрируют присутствие часовоподобной активности во многих нейронных и ненейронных тканях. Так, в дополнение к СХЯ ряд областей мозга млекопитающих, включая обонятельные луковицы, миндалину, латеральную уздечку и множество ядер гипоталамуса, экспрессируют часовую ген, выход гормонов и электрическую активность. В работе Guilding and Piggins (2007) представлены данные об экстра-СХЯ-осцилляторах в мозге млекопитающих и приводятся сведения об основных свойствах и различиях между осцилляторами разных областей мозга. Демонстрация нейронных пейсмекеров, находящихся вне СХЯ, имеет далеко идущее значение для модели циркадианной системы общеорганизменного уровня.

Пейсмекеры — эндогенная активность, роль которой в жизни живого организма чрезвычайно разнообразна. Одна из функций пейсме-

керов — формирование ритмики мозга. Ритмичность разрядов нейронов некоторых структур мозга (таламуса, гипоталамуса и т. д.) многие исследователи связывают с поступлением к клеткам ритмических синаптических влияний — в этом заключается идея о сетевой основе ритмичности. Однако такие подкорковые структуры, как ретикулярная формация, мозжечок, гиппокамп, супрахиазмное ядро, оливы, содержат нервные клетки, ритмические разряды которых задаются специальным внутриклеточным механизмом (эндогенная основа ритмичности). Новые исследования, выполненные при помощи регистрации ЭЭГ, позитронно-эмиссионной томографии, магниторезонансной томографии, позволяют выдвинуть гипотезу о роли нейронов — генераторов в генезе основных ритмов мозга. В качестве одного из возможных источников возникновения суммарных ритмов мозга рассматривается пейсмекерная активность нейронов (Geisler, 2005, Johnson, 2005, Maccafferri and McBain, 1996). *Именно эта категория эндогенных процессов, опосредуемых активным транспортом ионов, образует механизм внутреннего генератора нейрона, обеспечивая периодическое достижение порога генерации потенциалов действия (ПД) в отсутствие внешнего источника возбуждения.*

13.6. Пейсмекеры гиппокампа

Природа тета-ритма. Большой интерес вызывают экспериментальные данные по исследованию тета-ритма — низкочастотной ритмической активности (4-10 герц) в септо-гиппокампальной области. Одна из обсуждающихся гипотез состоит в том, что тета-ритм участвует в процессах обучения и памяти.

Медиальный септум является необходимым компонентом субкортикальной сети, которая синхронизирует активность клеток гиппокампа на тета-частотах во время специфических стадий информационного процесса. Предполагается, что ГАБАергические нейроны, проявляющие высоко регулярную спайковую активность, связанную с гиппокампальным тета-ритмом, создают основу для медио-септальной системы, генерирующей ритм. В последних исследованиях показано, что гиперполяризационно-активируемый, управляемый циклическим нуклеотидом неизбирательный к катионам канал участвует в тета-синхронизации медиального септума. В работе Varga et al. (2008) проверялась гипотеза, согласно которой экспрессия этого канала коррелирует с тета-модулируемыми разрядами медио-септальных нейронов при помощи соединения анатомических и нейрофизиологических подхо-

дов. Нейроны, имеющие такие каналы, составляют особую популяцию ГАБАергических клеток. Ритмические разряды в диапазоне тета-частот является характеристикой этих клеток. Наоборот, только малая часть клеток, не имеющих такого канала, проявляет связь с тета-ритмом. Все клетки с позитивным каналом имеют четкую привязку к определенной фазе тета-активности. Микроионофоретическая блокада канала приводит к снижению частоты разрядов, но нарушения тета-ритма зафиксированы только в нескольких случаях. Эти данные показывают, что экспрессия канала у ГАБАергических нейронов обеспечивает управление на всех фазах гиппокампального тета-ритма. У большинства септо-медиальных клеток генез тета-активности, по-видимому, определяется посредством взаимодействия на уровне сети и не зависит только от пейсмекерных свойств этих особых каналов (Varga et al., 2008).

Пейсмекеры CA1. Механизмы, опосредующие прямые и навязанные ритмические осцилляции мембранного потенциала пирамидальных нейронов поля CA1 гиппокампа, исследовались на срезах мозга крысы. Собственные осцилляции (6–14 Гц, менее 10 мВ) вызывались импульсами деполяризационного тока длительностью 2 с у 42% зарегистрированных клеток. Осцилляции также запускались синусоидальными трансмембранными токами частотой 2,7 и 14 Гц, что имитировало синаптически опосредованные *in vivo* «внутриклеточные тета-ритмы». Медленные, по типу «все-или-ничего» события (40 мВ, 55мс), напоминающие ритмические высокопороговые медленные спайки, наблюдаемые *in vivo*, вызывались и навязывались синусоидальным током с большой выраженной деполяризацией у 35% клеток. Собственные осцилляции были нечувствительны к свободному Ca^{++} , Co^{2+} (2мМ) и Mn^{2+} (2мМ) растворам, но блокировались тетродотоксином (ТТХ), показывая, что они опосредованы натрием. Также найдено сосуществование высокого порога для Ca^{2+} и устойчивой натриевой проводимости у пирамидных клеток поля CA1. Устойчивая натриевая проводимость опосредовала собственные осцилляции и флуктуировала вместе с используемыми синусоидальными токами. Более медленная высокопороговая Ca^{2+} проводимость осциллировала исключительно на частоте менее 7 Гц и не поддерживала собственные колебания (Garcna-Mucos et al., 1993).

Пейсмекеры CA3. Синхронная активность нейронных популяций часто инициируется пейсмекерной областью и распространяется, чтобы привлечь и другие области. В работе Wittner L, Miles R (2007) исследуются факторы, которые определяют область локализации пейсмекера. Район CA3 гиппокампа действует как пейсмекер, который

растормаживает синхронность в гиппокампальных срезах морской свинки. Пирамидные клетки СА3 более возбудимы и разряжаются берстами (залпами) чаще, чем клетки СА3b. Клетки СА3a имеют более сложный дендритный рисунок, чем клетки СА3 b, в особенности в зоне рекуррентных синапсов. Обнаружено, что многие клетки СА3a и немногие СА3b ведут себя как пейсмекерные, разряжаясь до явлений, которые происходят в популяции, и побуждают другие клетки к разрядам. При увеличении возбудимости и усилении синаптических связей нейроны СА3a могут также активироваться, иницилируя гиппокампальную ансамблевую активность.

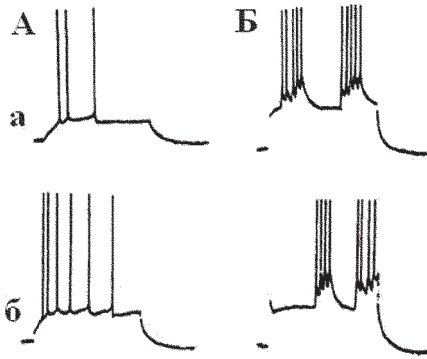


Рис. 13.24. Вызванные повторные и залповые разряды сомы пирамидного нейрона СА1 гиппокампа. А — ответ сомы на инъекции деполяризационного тока двух интенсивностей (а и б). Стимул более высокой интенсивности вызывает повторяющиеся, но не залповые разряды. Б — залповые разряды, вызванные в соме той же клетки при помощи экстраклеточной стимуляции апикальных дендритов. Сравните двойной залповый ответ на длительную стимуляцию дендритов (Ба) с повторными разрядами, вызванными соматической стимуляцией (Аб). Одновременная гиперполяризация сомы (Бб) увеличивает латентный период развития залпов и предотвращает развитие соматического ПД (по R. K. S. WONG AND M. STEWART Different firing patterns generated in dendrites and somata of cal pyramidal neurones in guinea-pig hippocampus. Journal of Physiology (1992), 457, pp. 675-687 675).

Зависимость типа ответа от места его возникновения.

Результаты опытов на центральных нейронах заставляют предполагать, что различия в паттернах разрядов могут быть свойством количественного различия ионных проводимостей. Выходной паттерн нейрона обычно определяется посредством последовательности активации ионных проводимостей. Ионные проводимости, определяющие особен-

ности паттерна разрядов, могут быть модифицированы рядом факторов. Мембранная поляризация или аппликация нейротрансмиттера могут быть необходимы, чтобы активировать или не активировать специфические проводимости, которые могут переводить разряды клетки из повторных в берстовые.

Прямые регистрации от дендритов также вскрывают механизм берстовой активности на апикальных дендритах пирамидных клеток CA1 и CA3 гиппокампа. В опытах Wong et al. (1979) было показано, что берстовый ответ, полученный при одной локализации, может вызвать берстовую реакцию при другом положении возбуждательного входа. Так, дендритный залп может усиливать синаптические события, гарантируя и соматический разряд.

Для изучения происхождения повторных и залповых разрядов этих клеток использовалась внутриклеточная регистрация от пирамидных клеток CA1 срезов гиппокампа морской свинки (Wong RK, Stewart M, 1992). Одиночные ПД развивались при действии деполяризационного тока при регистрации от сомы. Наоборот, ток инъецируемый во время интродендритной регистрации, инициировал берсты в дендритах (рис. 13.24). Берстовые разряды можно было вызвать в соме при прямой деполяризации дистальных апикальных дендритов (примерно 150 микрон от слоя клеточных тел). Внутриклеточная регистрация велась одновременно от апикальных дендритов и сомы пирамидных клеток. Парная дендро-соматическая регистрация подтвердила, что ритмические одиночные ПД генерируются сомой нейрона, а берсты генерируются в дистальных апикальных дендритах. Быстрые спайки в дендритах часто запускают быстрые спайки в соме, но не все быстрые спайки в дендритных берстах были запускающими для сомы. В парной регистрации, когда дендритные ПД не могут вызвать полного соматического спайка, дендритный спайк обычно регистрировался в соме. Соматический д-спайк был одинаковым (unifom) ответом по типу «все-или-ничего». В некоторых случаях он может запустить генерацию полного соматического спайка. Затухающие спайки можно зарегистрировать в дендритах, и они запускают соматическими ПД. Дендритные ответы на соматическую стимуляцию иногда изменяются по амплитуде, но всегда имеется прямое соответствие между дендритным и соматическим ПД. Дендритная регистрация, проведенная близко к телу клетки (менее 150 мк), показала, что есть переходная область, в которой можно чаще вызвать одиночный ПД, а не залповую активность. Последствие от такого одиночного ПД отличается от такового после сомати-

ческого спайка. Обнаружен сдвиг от следовой гиперполяризации к деполяризованному последствию. Результаты показывают, что активность пирамидных клеток CA1 гиппокампа, вероятно, отражение ее выхода и может быть или берстовой, или в виде одиночных ПД. Соматические берсты не похожи на разряды, которые наблюдаются на апикальных дендритах, или на берстовые разряды клеток области CA3, они не инициируются локально. Скорее, они являются быстрым ответом сомы по типу спайк на спайк на берсты с апикальных дендритов. Таким образом, берстовые ответы могут генерироваться при обеих локализациях источника возбуждения, но соматические берстовые ответы развиваются только в том случае, когда причиной залпа являются апикальные дендриты. Берстовый паттерн соматических потенциалов действия является результатом запуска быстрых дендритных спайков к соме. Прямая соматическая стимуляция не продуцирует берстовых ответов. Был сделан вывод о том, что разные паттерны выходящей активности нейронов CA1 пирамидных клеток могут зависеть исключительно от локуса возбуждения.

Электрофизиологические свойства 4 классов нейронов. Медиальный септально-диагональный пучок (MSDB) содержит холинергические и нехолинергические нейроны. Известно, что эти нейроны играют важную роль в процессах обучения и памяти и в генерации гиппокампального тета-ритма. Электрофизиологически некоторые классы нейронов описаны для MSDB, но их химическая идентификация остается полностью не определенной. In vitro соединение методов электрофизиологии с RT-PCR позволило идентифицировать четыре класса нейронов. Первый класс нейронов демонстрирует медленные разряды нейронов и малые токи I_h или их полное отсутствие и экспрессирует холинтрансферазную mRNA (ChAT). Второй класс — это быстро разряжающиеся нейроны. Они имели постоянный I_h и экспрессировали glutamic acid decarboxylase 67 mRNA (GAD67). Третий класс нейронов характеризуется быстрыми разрядами и берстовыми разрядами, экспрессируя glutamic acid decarboxylase 67 mRNA (GAD67). Ионные механизмы, лежащие в основе генерации берстов, вовлекали низкороговые спайки и четко выраженный ток, проводимости которого часто ассоциируются с пейсмекерной активностью. Четвертый класс — нейроны, которые экспрессировали транскрипты только для одного или двух везикулярных глутаматных транспортеров (VGLUT1 и VGLUT2), но не для ChAT or GAD. Некоторые, предположительно глутаматергические, нейроны проявляли электрофизиологические свойства, сход-

ные с ChAT-позитивными, медленно разряжающимися нейронами, но примерно половина глутаматергических нейронов проявляла кластровые разряды, прямо управляемые потенциал-зависимым подпороговым мембранным осциллятором (рис. 13.25 и 13.26). Нейроны, относящиеся к одному из четырех классов, были найдены среди септо-гиппокампальных нейронов при помощи ретроградной метки. Предполагается, что холинергические медленно разряжающиеся нейроны, быстро разряжающиеся и берстовые ГАБАергические нейроны, кластерно разряжающиеся глутаматергические нейроны могут вносить вклад в гиппокампальную ритмичность *in vivo* (Sotty et al., 2003).

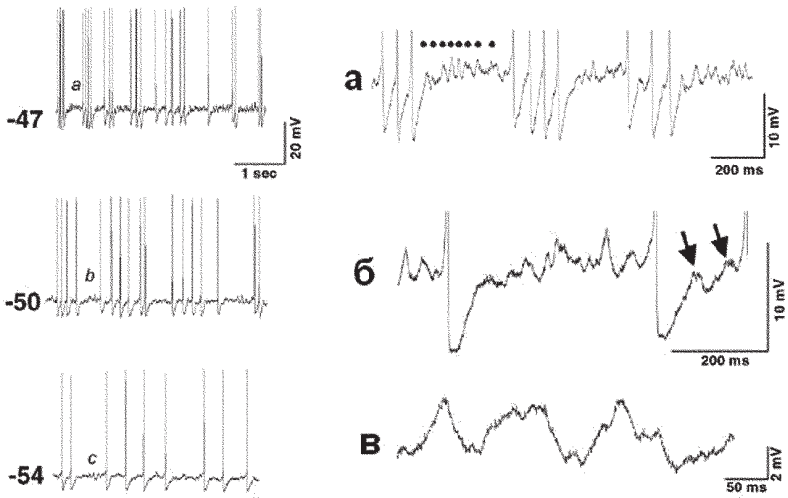


Рис. 13.25. Внутрикластерные, межкластерные и подпороговые осцилляции нейронов гиппокампа. А — нейрон, зарегистрированный в условиях фиксации напряжения на мембране, демонстрирует разряды в кластере других нейронов при предъявлении импульса деполяризационного тока увеличивающейся амплитуды. Увеличение подпороговых осцилляций показано справа (а-в) для каждого процесса, показанного слева. Частота мембранных осцилляций увеличивается при деполяризации мембраны — от -54 до -47 мВ). У этого разряжающегося в кластере нейрона частота осцилляций около 25 Гц при -47 мВ (осцилляции, обозначенные точками, демонстрируют увеличение амплитуды на рисунках справа) и около 10 Гц при -54 мВ. При МП около -50 мВ межкластерная, внутрикластерная и подпороговая частота осцилляций ниже, чем при -47 мВ. (по F. Sotty, M. Danik, F. Manseau, F. Laplante, R. Quirion and S. Williams. *Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons: novel implications for hippocampal rhythmicity J Physiol* (2003), 551.3, pp. 927-943).

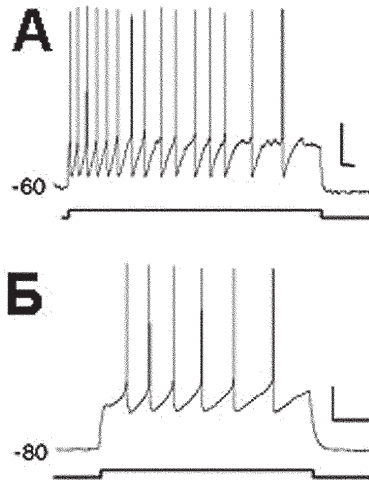


Рис. 13.26. Ответы нейронов гиппокампа на прямое электрическое раздражение. А и Б — ответы нейрона, зарегистрированные в условиях фиксации напряжения на мембране на -60 мВ и -80 мВ при действии импульса деполяризационного тока. Этот нейрон демонстрирует медленные регулярные разряды. Калибровка: 20 мВ, 200 мс. (по F. Sotly, M. Danik, F. Manseau, F. Laplante, R. Quirion and S. Williams Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons: novel implications for hippocampal rhythmicity *J Physiol* (2003), 551.3, pp. 927-943).

В опытах Brazhnik and Fox (1995) изучали свойства медиально-септальных нейронов и нейронов диагонального пучка Брока. На основе формы и длительности ПД, следовой гиперполяризации, мембранных характеристик, скорости разрядов и чувствительности к действию антагониста мускариновых рецепторов были выделены три типа ритмических берстовых нейронов. 1. Клетки с потенциалами действия короткой длительности без следовой гиперполяризации имели высокую скорость разрядов и чрезвычайно устойчивые берсты, насчитывающие от 2 до 34 спайков на тета-цикл. Они были чрезвычайно устойчивы к действию скополамина. 2. Клетки с потенциалами действия короткой длительности, с небольшой следовой гиперполяризацией тоже имели высокую скорость генерации ПД и устойчивые берсты с 4-13 спайками, фазовой привязкой к негативному пику тета-ритма зубчатой фации. Гиперполяризационный импульс показал, что мембрана имеет малую постоянную времени, прекращение гиперполяризационного импульса дает эффект отдачи в виде генерации спайков. Деполяризация

приводит к возникновению последовательных залпов высокочастотных потенциалов действия без адаптации спайков по частоте. Многие из этих нейронов сохраняют без изменения паттерны разрядов и привязку к тета-ритму в присутствии антагониста мускарина. 3. Клетки с ПД большой длительности и выраженной медленной следовой гиперполяризацией имели низкую частоту разрядов и обычно только 1-3 спайка на тета-цикл, привязаны в основном к позитивному пику тета-волны зубчатой фасции. Гиперполяризационный ток вызывает прекращение генерации спайков и ярко выраженную адаптацию к его действию. ПД и мембранные свойства клеток этого типа совпадают с теми, которые были описаны для холинергических септальных нейронов. Тета-привязанная активность этих клеток уничтожалась мускариновыми антагонистами. Фазическое торможение холинергических MS/DB нейронов ГАБАергическими MS/DB нейронами сопровождалось эффектом отдачи. Предполагается, что это и является механизмом, который дает вклад в вовлечение MS/DB нейронной популяции в синхронизированные ритмические берсты активности, которые лежат в основе развития гиппокампального тета-ритма (Brazhnik, Fox, 1997).

Пейсмекеры и синаптическая пластичность. Среди различных областей мозга гиппокамп и неокортекс демонстрируют высокую чувствительность к индукции синаптической пластичности. В работе Yoshimura (2005) внимание фокусируется на этих кортикальных областях и исследуется действие кофеина на пластические изменения структуры и функции от синапса до кортикальных систем. Кофеин может влиять на функции мозга через повышение уровня внутриклеточного кальция. Обсуждая способы реорганизации нейронных систем, автор приходит к идее о том, что для этого может понадобиться синхронизация синаптической активности между кластерами нейронов. В этой связи между синаптической пластичностью и нейронными осцилляциями могут существовать весьма сильные зависимости. Ясно, что начало осцилляций требует запускающего входа, а осцилляция обеспечит распространение нескольких колебаний. Индукция осцилляций требует низкочастотной активности от входных волокон в соединении с аппликацией кофеина. Отметим, что запуск осцилляций требует и активации NMDA-рецепторов, и высвобождения внутриклеточного кальция из внутренних кальциевых хранилищ. Предполагается наличие осциллирующих нейронов в зрительной коре. В других исследованиях показано, что осцилляторы могут быть и за пределами зрительной коры. Ретроспленальная кора занимает критическую позицию между зри-

тельной корой и гиппокампом. В ретроспленальной коре сциллятор присутствует в гранулярной ретроспленальной коре. Активация осцилляторов, находящихся во вторичной зрительной коре и в ретроспленууме, при аппликации кофеина открывает функциональные связи от первичной зрительной коры к постсубикулуму. Поэтому в присутствии кофеина осциллятор с локальной синхронизацией может индуцировать пространственно обширную синаптическую пластичность от зрительной коры к гиппокампальной формации. Это исследование инициировано «осцилляторно-зависимой» гипотезой пластичности (Yoshimura, 2005).

13.7. Пейсмекеры мозжечка

Клинические данные, полученные в исследованиях человека, и экспериментальные результаты на животных демонстрируют участие мозжечка в координации баллистических движений и сопровождающих их позных изменениях. Мозжечек участвует в кодировании порядка и длительности сокращения различных протагонистических мышц, опосредующих одно и то же движение. В обычной жизни это автоматические, неосознаваемые действия. Последние исследования показали, что неocerebellum человека (латеральное полушарие и зубчатое ядро) играет важную роль в регуляции некоторых неокортикальных когнитивных функций. Этот новый функциональный аспект активности мозжечка интерферирует с результатами, полученными в трех разных ветвях исследований: нейроанатомическими данными, показывающими существование (иногда реципрокного) проводящего пути между неocerebellumом и ассоциативной и лимбической областями у приматов, нейрофизиологическими сведениями, демонстрирующими ухудшение чисто когнитивных функций у пациентов с нарушениями функции мозжечка, и данными магнито-резонансного сканирования на здоровых людях во время выполнения немоторных задач. Таким образом, cerebellum может участвовать в регуляции сенсорных, процедурных, лингвистических и эмоциональных активностей. Это означает, что операции на мозжечке могут сопровождаться когнитивными и аффективными синдромами в зависимости от важности и локализации операции (Nabas, 2001). fMRI позволяет сравнить гемодинамические ответы, которые вызываются разными причинами при выполнении заданий, связанных с воспоминанием. Таким образом были идентифицированы те области мозга, которые делают вклад в успешное припоминание, включая

префронтальную кору и медиальную височную кору. Хотя участие мозжечка в вербальной рабочей памяти хорошо подтверждено, вклад мозжечка в эпизодическое долговременное кодирование было описано лишь вскользь, а механизмы, лежащие в основе памяти мозжечка, неясны (Fließbach et al., 2007).

Общеизвестна удивительная однородность и регулярность структуры мозжечка, что привлекает к его исследованиям пристальное внимание физиологов, морфологов и теоретиков. Благодаря этому, детали нейронной организации мозжечка изучены на структурном и функциональном уровнях, по-видимому, лучше, чем характеристики других отделов мозга.

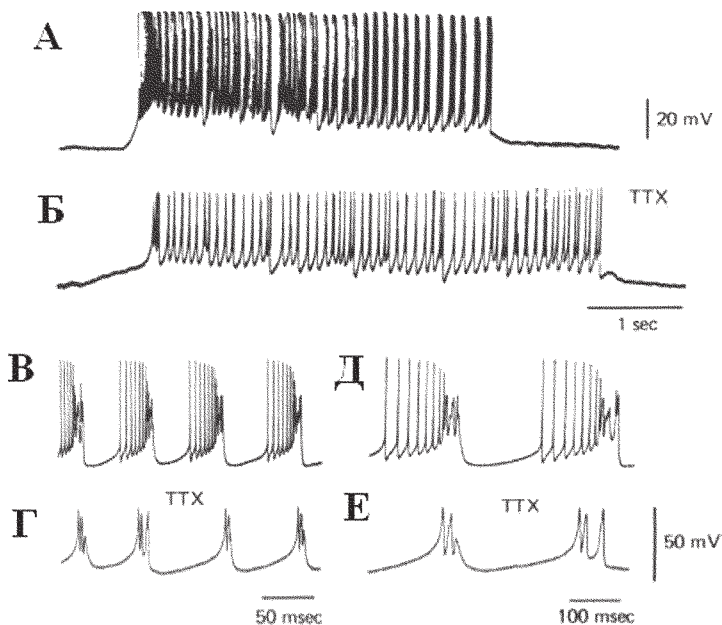


Рис. 13.27. Спонтанные разряды клеток Пуркинье. А — спонтанная деполяризация, продолжающаяся 4 с, наблюдалась в отсутствии стимуляции. Б — добавление ТТХ вызывает блокаду соматического спайка. В-Д — спайковые разряды, состоящие из быстрого спайка и дендритного спайкового залпа. Г и Е — ответы после добавления в раствор ТТХ. Заметно, что спонтанные залпы спайков не изменяются, асоматические спайки блокируются (по R. LLINAS AND M. SUGIMORI *Electrophysiological Properties Of In Vitro Purkinje Cell Dendrites In Mammalian Cerebellar Slices* J. Physiol. (1980), 305, pp. 197-213).

Центральным элементом в мозжечке является клетка Пуркинье. Каждая клетка получает чрезвычайно много (до 500 тыс.) синапсов от аксонов зернистых клеток, формирующих ПВ. Помимо входов от большого числа зернистых клеток, на каждую КП через сложный синапс оказывает мощное воздействие одиночное афферентное нервное волокно — лианное волокно. Активность клеток Пуркинье чрезвычайно разнообразна: от длительных пауз и высокочастотных пачек импульсов до своеобразных относительно медленных высокоамплитудных потенциалов, растянутых нередко на десятки миллисекунд. Это так называемые сложные импульсы, возникающие со средней частотой 1 раз в секунду (рис. 13.27).

Нейроны мозжечка привлекли внимание исследователей необычайным разнообразием паттернов электрической активности. В работе Llinas and Sugimori (1980) регистрировалась электрическая активность клеток Пуркинье на срезах мозжечка морской свинки. Методом внутриклеточного отведения исследовалась активность сомы, антидромное распространение импульса и электрическая и синаптическая чувствительность. Прямая электрическая стимуляция вызывала быстрые повторяющиеся разряды сомы, когда достигался порог генерации спайков. Минимальная частота разрядов около 30 сп./сек. При увеличении силы деполяризационного стимула наблюдался второй тип электрических ответов — залпы спайковой активности, которые часто сопровождалась инактивацией соматических спайков. При аппликации тетродотоксина или удалении натрия из омывающего физраствора соматические спайки уничтожались, а залповая активность сохранялась. Однако блокирование кальциевой проводимости кобальтом, кадмием, марганцем, D600 или замещением кальция магнием в физрастворе убирала генерацию залповой активности. Если Ca^{2+} блокировали или удаляли из раствора, не блокируя Na, то можно было наблюдать два типа натрий-чувствительных процессов: соматические спайковые разряды и медленные деполяризационные ответы, которые развивались по типу «все-или-ничего». Они достигали -15 мВ и могли продолжаться в течение нескольких секунд. Эти потенциалы блокировались ТТХ или исчезали в безнатриевом растворе. Спонтанная активность клеток Пуркинье характеризовалась соматическими спайками и залповыми разрядами. При добавлении ТТХ основная активность и ее частота оставались сохранными, демонстрируя зависимость от присутствия Ca^{2+} .

У клеток Пуркинье в ответ на стимуляцию восходящих волокон возникают как высокочастотные одиночные спайки, так и сложные ком-

плексные — залповые процессы. Было найдено, что натриевые спайки распространяются вплоть до частоты 260 Гц, а комплексные спайки проводятся не полностью, а только первый и последний спайк. Гиперполяризация повышает эффективность проведения, не влияя на общее число аксонных спайков, а деполяризация может уничтожить проведение сложного комплекса спайков (залпа). Эти данные показывают, что сложные комплексы не всегда проводятся по аксонам к нижележащим синапсам, а распространение ответов по восходящему волокну может модулироваться фоновой активностью (Monsivais et al., 2005). Хорошо известно, что входы клеток Пуркинье от восходящих волокон могут оказывать контролирующее влияние на фоновые простые спайки этих клеток, а повторная стимуляция восходящих волокон приводит к снижению спайковой активности. Удаление или инактивация этих волокон сопровождается увеличением спайковой активности клеток Пуркинье. В опытах Cerminara and Rawson (2004) показано, что если применить инактивацию клеток Пуркинье посредством влияния на входы от восходящих волокон вместе с веществом лигнокаином или микрохирургией верхних олив, то соматические разряды КП становятся значительно более регулярными и достигают по частоте высокого уровня. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что восходящие волокна оказывают на клетки Пуркинье тормозное действие. Тормозные входы модулируют работу осцилляторного механизма КП.

Хотя считается, что клетки Гольджи — основной тормозный интернейрон гранулярного слоя мозжечка — играют центральную роль в функционированииocerebellарной сети, их возбудительные свойства остаются неисследованными. Клетки Гольджи разряжаются ритмически *in vivo* и в срезах мозжечка, но непонятно, всегда ли эта активность связана с пейсмекерным ионным механизмом. В работе Forti et al. (2006), выполненной на срезах мозга трехнедельной крысы, регистрировалась активность нейронов. При комнатной температуре клетки Гольджи разряжались с частотой 1-10 Гц и 2-20 Гц. При температуре 35-37°C эта активность сохранялась в присутствии блокаторов быстрых синаптических рецепторов и рецепторов mGluR and GABA_B, проявив себя в этих условиях как истинно пейсмекерные клетки. При использовании блокатора гиперполяризующего активационного тока развивалось падение частоты пейсмекера. Роль подпорогового натриевого тока не могли тестировать непосредственно, но наблюдалась четко выраженная ТТХ-чувствительность, не активирующая натриевый ток в подпороговой зоне. Когда исследовали ток реполяризации, то

обнаружили, что блокада кальций-зависимого калиевого тока снижает точность пейсмекера, не изменяя его частоты. Работа показала, что в пейсмекерную активность клеток Гольджи вносит вклад множество ионных механизмов, которые осуществляют тонкую регуляцию частоты генерации и точность ритма, влияя на циклическое торможение, вызываемое клетками Гольджи на гранулярном слое мозжечка.

13.8. Пейсмекеры верхних олив

Нейроны верхних олив (ВО) проявляют спонтанную осцилляторную активность, но значение этих осцилляций для формирования ответов этой системы не выяснено. Клетки Пуркинье оливо-церебеллярной системы генерируют ритмические и синхронные комплексные разряды. Предполагается, что этот феномен является результатом электротонического взаимодействия между клетками верхних олив и способностью этих клеток генерировать осцилляторную активность. То, что клетки верхних олив являются спонтанными осцилляторами, поддерживается данными нескольких направлений исследований: ВО-клетки, зарегистрированные на срезах мозга (в которых их афферентные входы существенно ограничиваются), проявляют подпороговые осцилляции мембранного потенциала (Llina's and Yağom, 1981, 1986); ритмическая активность комплексными спайками может быть изменена при помощи инъекции апамина и харибдотоксина, влияющих на проводимость Ca^{2+} , ритмическая активность комплексных спайков не только сохраняется, но и действительно становится более выраженной после блокады глутаматэргических и ГАМКэргических входов к нейронам ВО у интактных животных. Относительно мало исследований, которые могли бы ответить на вопрос о том, как эти осцилляторные свойства содействуют взаимодействию оливоцеребеллярной системы с другими областями мозга. Большая часть их делала вывод: подпороговые осцилляции ВО нейронов могут вызывать их ответы на синаптическую активность в зависимости от фазы цикла, на которую попадает синаптическая активность. Сильный стимул запускает ВО цикл осцилляций и продуцирует сцепленные осцилляторы комплексных спайков или спайковый ответ нейронов ВО. Предполагается, что осцилляторные свойства ВО нейронов определяют, как именно будет взаимодействовать оливоцеребеллярная система с другими областями мозга, но отсутствуют соображения о том, как будут ВО нейроны взаимодействовать со входящими осциллирующими сигналами, которые вполне могут исходить из моторной коры (Lang, 2001). Действительно, проводящие пути

из двигательной коры обеспечивают значимые функциональные входы на ВО, потому что электрическая стимуляция двигательной коры охотно запускает комплексные спайки. Так, эти две системы формируют организацию, в которой осцилляторная активность одной системы (моторной коры) может управлять осцилляторной активностью другой системы (оливоцеребеллярной).

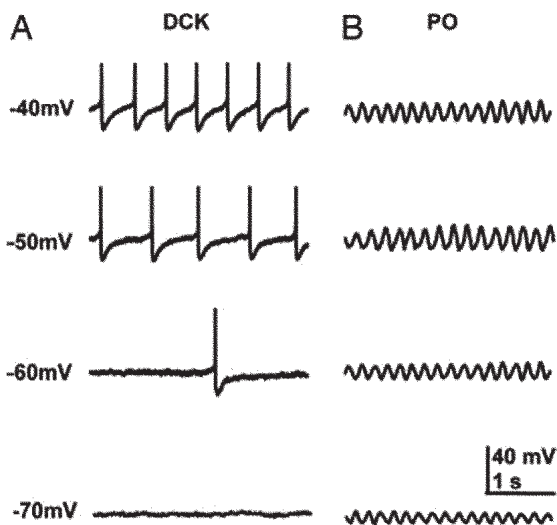


Рис. 13.28. Повторные разряды нейронов мозжечка (дорзального конца Кооу) зависят от мембранного потенциала. А — регистрация активности при МП -70, -60, -50 и -40 мВ. Частота разрядов увеличивается при деполяризации. Каждый отдельный потенциал действия сопровождается большой, продолжительной следовой гиперполяризацией. Амплитуда ПД на этом рисунке обрезана, чтобы продемонстрировать гиперполяризационное последствие и динамику развития потенциала. Б — регистрация ПО нейрона показывает подпороговые осцилляции частотой около 5 Гц при таких же значениях МП, что и на нейрограммах А. DCK нейрон и ПО нейрон зарегистрированы на одном и том же срезе (по Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Oct 31;103(44):16550-5. Epub 2006 Oct 18. Somatomotor and oculomotor inferior olivary neurons have distinct electrophysiological phenotypes. Urbano FJ, Simpson JI, Llinás RR).

В экспериментах Marshall и Lang (2004) применялся метод множественной электродной регистрации, чтобы изучить оливоцеребеллярные ответы на активацию моторного кортико-оливарного пути у крысы. К двигательной коре применялся ряд электрических стимулов часто-

той от 4 до 30 Гц. Кривые соотношения «частота стимула — величина ответной реакции» показали, что наиболее общим свойством всех нейронов является унимодальность с максимумом около 9,5 Гц и бимодальность с пиками около 8,9 Гц и 15,1 Гц. Чтобы определить, действительно ли в основе осцилляторных свойств ВО нейронов лежат резонансные пики этих кривых, в область изучения нейронов ВО инъецировали токсины, которые ослабляют или усиливают спонтанные осцилляции ВО, оказывая соответствующее влияние на остроту резонансных пиков. Результаты опытов показали, что нейроны верхних олив отвечают на афферентные сигналы как нелинейные осцилляторы. Это означает, что ВО действует как нелинейный осциллятор, который предпочитает отвечать на частоты вокруг относительно узкого частотного диапазона около 10 Гц.

Электрофизиологические свойства нейронов верхних олив крысы дорзального конца и восходящего вентролатерального отростка сравнивались с нейронами основной оливы (ОО) (рис. 13.28). В то время как нейроны DCK/VLO вовлекаются в контроль движения глаз через проекцию их восходящих волокон в церебеллярный флоккулус (выступ на коре мозжечка), ВО нейроны контролируют конечности и движение пальцев через проекцию своих восходящих волокон к латеральной церебеллярной полусфере. В опытах *in vitro* при регистрации активности нейронов DCK/VLO выяснилось, что низкий порог кальциевого тока и подпороговые осцилляции отсутствуют у этих нейронов. Регистрация активности DCK нейронов, полученная при использовании изображения вольт-чувствительной краской, показала, что активность не ограничивается одним нейроном, а скорее кластерами нейронов DCK, которые могут быть активированы в унисон. Эти электрофизиологические эксперименты показали, что нейроны DCK/VLO имеют уникальные свойства, которые выводят их за пределы нейронов PO ядра. Эта находка показывает, что моторный контроль, исходящий из оливо-церебеллярной системы, фундаментально отличает ее от окуломоторной и соматомоторной систем (Urbano et al., 2006).

Осцилляторные свойства нейронов верхних олив. Известно, что в опытах *in vivo* нейроны ВО осциллируют на частотах 5-10/с. с необыкновенной регулярностью. Взаимоотношение между проводимостями, описанными в работе Llinas and Y. Yağom (1981), должны выявить много неожиданных аспектов осцилляторного поведения нейронов ВО. Они должны быть способными запускать механизм генерации или при антидронной или при ортодромной активации, которая заставит

генерировать ADP-АНР последовательности. Осциллирующие кальциевые спайки развиваются на двух частотах, каждая из которых генерируется своим механизмом. Если клетка (особенно дендриты) частично деполяризована фоновой активностью, активация Na^+ спайка может успешно генерировать разряды с дендритов, которые продуцируют ребаунд соматического кальциевого спайка. В других случаях, связанных с негативностью мембранного потенциала, Na^+ не может активировать дендритный потенциал, но может запускать последовательность Са-К активаций на соме, которая, в свою очередь, приводит к соматическому ребаунду. В таких случаях частота разрядов может быть до 15 спайков/сек. вместо обычных 5-8 спайков/сек. Модуляция уровня мембранного потенциала и дендритная возбудимость, по-видимому, оказываются существенным параметром для определения частоты осцилляций этих нейронов (Llinas and Yarom, 1981).

Тормозные влияния от восходящих волокон. Хорошо известно, что входы клеток Пуркинье от восходящих волокон могут оказывать контролирующее влияние на фоновые простые спайки этих клеток, а повторная стимуляция восходящих волокон приводит к снижению спайковой активности. Удаление или инактивация этих волокон сопровождается увеличением спайковой активности клеток Пуркинье. В опытах Segmīnaga and Rawson (2004) показано, что если применить инактивацию клеток Пуркинье посредством влияния на входы от восходящих волокон вместе с веществом лигнокаином или микрохирургией верхних олив, то соматические разряды клеток Пуркинье становятся значительно более регулярными и достигают по частоте высокого уровня. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что восходящие волокна оказывают на клетки Пуркинье тормозное действие. Тормозные входы модулируют работу осцилляторного механизма клеток Пуркинье.

13.9. Пейсмекеры гипоталамуса

Нейроны переднего преоптического ядра чувствуют и регулируют температуру тела. Хотя в противовес этому существует и иное мнение: вызываемая теплом деполяризация определяет нейронную термочувствительность. Поддерживая эту гипотезу, недавние исследования показали, что катион-чувствительные ионные каналы включают в свой состав основополагающий механизм нейронной термочувствительности. Кроме того, было показано в более ранних работах, что теплочувствительность нейронов переднего преоптического гипоталамуса свя-

зана с деполяризационным натриевым током, который чувствителен к тетродотоксину. Чтобы это проверить, провели опыты с регистрацией от срезов гипоталамуса мозга крысы. Сравнили термальные эффекты на термочувствительных нейронах, температурочувствительных и молчащих нейронах. Все три типа нейронов показывали небольшую деполяризацию при действии тепла и гиперполяризацию при действии холода. В опытах не обнаружили следов resting-ионных токов, которые являются уникальными для термочувствительных нейронов. Это подтверждают те исследования, в которых предполагается, что нейронная термочувствительность находится под контролем токов, определяющих быстрые изменения мембранного потенциала между последовательными потенциалами действия (Zhao and Boulant, 2005).

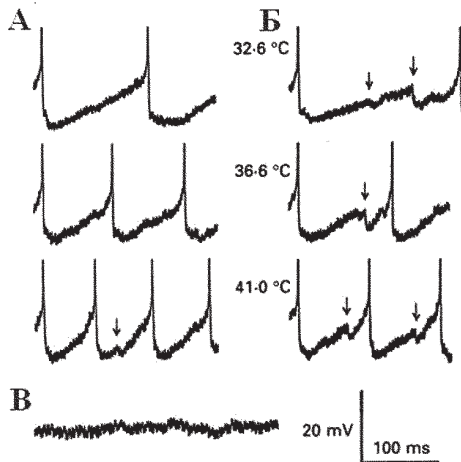


Рис. 13.29. Термочувствительные нейроны гипоталамуса. А — активность преоптического тепло-чувствительного нейрона, зарегистрированного при трех разных температурах. Потенциал покоя примерно -60 мВ. Стрелки показывают приход ТПСР-подобной активности. Б — активность того же самого нейрона, но межспайковые интервалы более длинные, и здесь представлено большее количество ТПСР. В — активность при 41°C во время инъекции гиперполяризационного тока (по *J Physiol.* 1991; 440: 257-71, Curras MC, Kelso SR, Boulant J.A.).

В исследовании Curras, Kelso and Boulant (1991), выполненном методом внутриклеточной регистрации на нейронах гипоталамуса, показано, что примерно 30% нейронов являются чувствительными к теплу, 10% к холоду, 60% температурно нечувствительны. Авторы обнару-

жили, что нейроны холодовой чувствительности, по-видимому, управляются через синаптические входы. В работах других авторов, выполненных на различных биологических объектах, показано: холодковые нейроны тормозятся синаптически теплосенситивными нейронами, а в некоторых случаях возбуждаются температурно-нечувствительными нейронами.

Теплосенситивные нейроны демонстрируют ритмические разряды с постоянным межспайковым интервалом, а потенциалу действия предшествует медленная плавная деполяризация (рис. 13.29). Эти деполяризационные потенциалы не зависят от синаптического входа, так как ВПСП не наблюдались, когда спайковая активность подавлялась гиперполяризационным током. Наоборот, данные свидетельствуют о том, что нейронная тепловая чувствительность обеспечивается внутренними деполяризационными потенциалами, которые сходны с температурно-чувствительными пейсмекерными потенциалами, описанными для других нейронов. Например, тепловая чувствительность нейронов апплизии связана с температурным влиянием на пейсмекерные потенциалы (Carpenter, 1970, 1973; Willis, Gaubatz and Carpenter, 1974), похожие деполяризационные потенциалы описаны для sunfish (Nelson and Prosser, 1981). Проведенные работы заставляют предполагать, что существует внутренний термочувствительный механизм у теплосенситивных клеток позвоночных животных. Это поддерживается и экстраклеточными исследованиями на срезах мозга крысы, в которых показано, что нейронная тепловая чувствительность сохраняется во время блокады синаптической передачи (Kelso and Boulant, 1982; Dean and Boulant, 1989).

Кроме того, о существовании внутреннего термочувствительного механизма говорит и тот факт, что частота ТПСП, регистрируемых у теплочувствительных нейронов преоптической области, не затрагивается температурой. Это означает, что некоторые врожденно теплосенситивные нейроны получают синаптические потенциалы (в данном случае ТПСП) от температурно-нечувствительных нейронов. Роль таких входов может заключаться в ограничении частоты разрядов теплосенситивных нейронов, не изменяя их теплочувствительности. Также невозможно исключить и того факта, что эти синаптические влияния увеличивают нейрональную теплочувствительность, так как вызываемое холодом повышение сопротивления может увеличивать амплитуду ТПСП и их длительность, а отсюда и снижение частоты разрядов во время холода.

В опытах на срезах мозга крысы регистрировалась электрическая активность нейронов преоптической *area-anterior hypothalamus*. Исследовалась термочувствительность нейронов при изменении температуры среза. 30% нейронов оказались теплочувствительными, 60% температурно нечувствительными, 10% чувствительными к холоду. Эти результаты совпадают с теми, которые получены при исследованиях на целом животном. Кроме того, предполагается, что гипоталамические термочувствительные нейроны не зависят от периферической афферентной импульсации. Все клетки имеют низкий уровень частоты разрядов (менее 10 имп./сек. при температуре 37°C). Более 83% теплочувствительных нейронов были наиболее чувствительными при температуре выше 37°C. Эти данные поддерживают предположение о том, что афферентные входы определяют уровень частоты разрядов и уровень термочувствительности тепловых нейронов. Холодочувствительные нейроны также проявляют максимальную сензитивность при 37°C, что может быть, если они получают ТПСР от рядом расположенных теплочувствительных нейронов (Kelso et al., 1982).

Последовательность тормозных или возбуждающих синаптических входов между пейсмекерными нейронами была предсказана математически и через компьютерное моделирование. *Парадоксально, что увеличение частоты разрядов может происходить при увеличении числа тормозных входов, а увеличение возбуждающих влияний может приводить к снижению частоты разрядов (Perkel et al., 1964).*

Ростральный гипоталамус, в особенности *preoptic-anterior hypothalamus* (РОАН), содержит температурно-чувствительные и нечувствительные нейроны, которые формируют синаптическую сеть, чтобы контролировать терморегуляторные ответы. Предварительные исследования заставляют предполагать, что циклический нуклеотид *cGMP* является важным участником в работе этой нейронной системы, так как микроинъекции *cGMP*-аналога продуцируют у некоторых видов гипотермию. В проведенном исследовании методами иммуногистохимии показано, что нейроны рострального гипоталамуса содержат *cGMP*, гуанилат циклазу (необходимую для синтеза *cGMP*) и *CNG A2* (важный канал, управляемый циклическим нуклеотидом). На срезах мозга крысы регистрировалась электрическая экстраклеточная активность от разного типа нейронов в ростральном гипоталамусе. Каждый зарегистрированный нейрон классифицировался в соответствии с его термочувствительностью, так же, как в зависимости от частоты разрядов, вызванных микроМ 8-бromo-*cGMP* (аналог мембрано-проницаемого *cGMP*). *cGMP*

имеет специфическое действие на различные нейроны рострального гипоталамуса. В РОАН аналог сGMP снижает частоту разрядов у 45% температурно-чувствительных и нечувствительных нейронов, эффект, который, вероятно, связан с сGMP-усиливаемым гиперполяризующим током калия. Это снижение активности нейронов РОАН может снизить терморегуляторные ответы и вызывать гипотермию во время экспозиции холодной или нейтральной окружающей температуры. Хотя 8-бромо-сGMP не затрагивает термосензитивность большей части нейронов РОАН, он увеличивал тепловую чувствительность нейронов других гипоталамических нейронов, локализованных в дорзальной, латеральной и постериорной частях РОАН. Это повышение термосензитивности может быть связано с пейсмекерными токами, которые фасилитируются циклическими нуклеотидами. Если некоторые из термочувствительных нейронов, расположенных не в РОАН, провоцируют heat loss или же тормозят продукцию тепла, то повышение их термочувствительности может участвовать в снижении температуры тела, вызываемой сGM (Wright et al., 2008).

Чтобы понять основы термосензитивности таламических нейронов, регистрировалась активность одиночных клеток *in vitro* от постоянно перфузируемых срезов мозга из преоптической области и anterior hypothalamus (РО/АН). Частота разрядов и термочувствительность отдельных клеток РО/АН определялась перед, во время и после перфузии ткани раствором, содержащим блокатор синаптической передачи в виде повышенного содержания магния или пониженного содержания кальция. Во время синаптической блокады термочувствительность сохранялась почти у всех нейронов, чувствительных к теплу, а некоторые термонечувствительные нейроны проявляли увеличение чувствительности к теплу. Термочувствительность всех холодосензитивных нейронов полностью терялась во время синаптической блокады. Эти результаты поддерживают гипотезу о том, что РО/АН — холодосензитивные нейроны зависят синаптически от теплосензитивных нейронов в их температурной чувствительности, а теплочувствительные нейроны не зависят от свойств нейронов РО/АН областей (Kelso, Boulant, 1982).

Чтобы понять роль гипоталамического дофамина в терморегуляции, регистрировали активность одиночных нейронов *in vitro* от постоянно перфузируемых срезов преоптической области и переднего гипоталамуса (РО/АН) мозга крысы. Сначала определялась частота разрядов и термочувствительность клетки, затем следили за ее изменением

во время и после перфузирования среза раствором, содержащим дофамин. Дофамин возбуждал 41% теплочувствительных нейронов, тормозил 100% холодочувствительных и не оказывал никакого эффекта на 83% температурно нечувствительных клеток. Кроме того, дофамин снижал локальную чувствительность большей части холодочувствительных нейронов. Полученные результаты согласуются с гипотезой о том, что дофамин вовлекается в гипоталамические синапсы, контролирующие синаптические терморегуляторные ответы, препятствующие повышению температуры тела (Scott and Boulant, 1984).

13.10. Пейсмекеры сетчатки

В сетчатке живых существ разного эволюционного уровня обнаружены клетки, имеющие механизм пейсмекерной активности. Результаты экспериментов показывают, что их функции различны: можно выделить, по крайней мере, два рода задач, в решении которых они принимают участие: во-первых, это формирование циркадианных ритмов, во-вторых, переработка и передача информации о зрительных сигналах.

Нейронными разрядами управляют или синаптические входы, или собственные пейсмекеры клеток. Общепринято, что в спокойном состоянии спайковой активностью ганглиозных клеток управляют синапсы, потому что ретинальные фоторецепторы и клетки второго порядка тонически высвобождают нейротрансмиттер. *ON- и OFF-ответы ганглиозных клеток генерируют сохраняющуюся активность посредством разных механизмов: ON-клетки зависят от тонического возбуждательного входа, который управляет активностью, а OFF продолжают разряжаться в отсутствие синаптических сигналов. В дополнение к спонтанной активности OFF-клетки проявляют другие свойства пейсмекерных нейронов, включая подпороговые осцилляции, берсты (залпы) и последствие.* Таким способом разные веса синаптических механизмов и прямых свойств нейронов лежат в основе различий в генерации сохраняющейся активности в этих параллельных ретинальных проводящих путях.

Общим свойством нейронных цепей является то, что они активны даже во время отдыха. Сохраняющиеся разряды нейронов определяются комбинацией синаптических входов и собственных свойств нервных клеток. Эти факторы по-разному оцениваются в разных нейронных цепях. У некоторых нейронов (например, у кортикальных пирамидных клеток) остаточная спайковая активность требует участия синаптических входов, а другие клетки (например, пирамиды Пуркинье) управля-

ются своими собственными пейсмекерами. Данные о синаптических и пейсмекерных механизмах существенны для понимания того, как работает нейронная цепь.

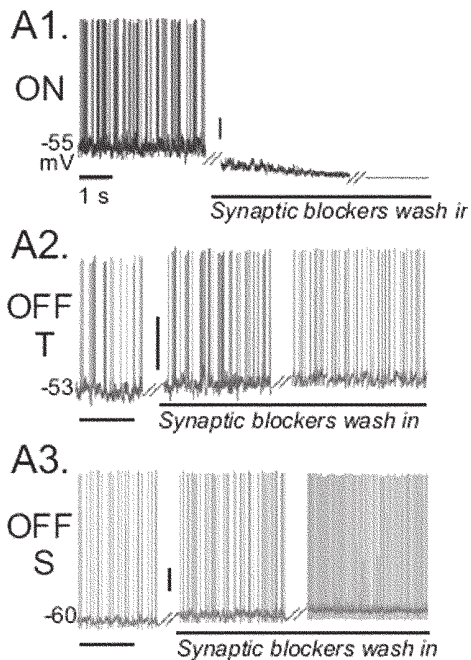


Рис. 13.30. Пейсмекеры сетчатки. Сохраняющиеся разряды OFF-нейрона при постоянной синаптической блокаде. На нейрограммах показано действие смеси синаптических блокаторов на активность ON-нейрона (A1), OFF T (A2) и OFF S (A3) RGC свето-адаптированной сетчатки. Калибровка: 10 мВ (по Different Mechanisms Generate Maintained Activity in ON and OFF Retinal Ganglion Cells David J. Margolis and Peter B. Detwiler The Journal of Neuroscience, May 30, 2007 · 27(22):5994-6005).

Образы, попадающие на сетчатку, проецируются на фоторецепторную мозаику и передаются в мозг при помощи спайковой активности ретинальных ганглиозных клеток. Существуют и параллельные проводящие пути, специализированные на различных свойствах зрительного образа. Изменения интенсивности освещения, центрального для нашего зрительного восприятия, кодируются отдельными ON- и OFF-проводящими путями, двумя главными каналами зрительной системы, которые возбуждаются включением и выключением света соответственно.

Двухтактная модуляция скорости разрядов ON- OFF-ответов ганглиозных клеток считается основной в восприятии изменений контраста, яркости и затененности визуальных сцен.

Фоновые разряды ганглиозных клеток отражают баланс между возбуждательным центром и тормозной периферией рецептивных полей этих клеток. В ранних работах были описаны различия в фоновой активности ON- и OFF-клеток. Но они не были объяснены. Работы, в которых сравнивали синаптические системы ON- и OFF-проводящих путей, идентифицировали различия по силе и динамике возбуждательных и тормозных синаптических входов. Доказано, что различия полностью обеспечиваются различием синаптических систем.

Возможность участия собственных свойств нейронов ни разу не рассматривалась. Чтобы изучить участие пейсмекерной активности в фоновой ритмике ON- и OFF-систем, анализировали работу в состоянии покоя, без участия стимулов. Показано, что OFF-клетки в отличие от ON-клеток, генерируют спонтанную активность, которая не управляется синаптическими входами (рис. 13.30). Обнаружены различия в видах спайковой активности, подпороговых осцилляциях, последствии, потенциал-зависимой Ca^{2+} и Na^{+} проводимости. Эти результаты показывают участие разных механизмов в генерации фоновой спайковой активности ON- и OFF-ретинальных нейронных систем. В работе применяется препарат изолированной сетчатки. Сохраняющейся активностью авторы называют продолжающуюся генерацию спайков в отсутствии света, а спонтанная активность рассматривается как спайковая, когда она генерируется непосредственно клеткой и не зависит от синаптических влияний (Margolis and Detwiler1, 2007) .

Пейсмекеры изолированных нейронов сетчатки моллюска

Изолированные пейсмекерные нейроны аплии лишены любых морфологически специализированных процессов, ответственных за освещение. Нейроны были выделены из сетчатки и отделялись от других ретинальных элементов. Для проведения электрофизиологических исследований их сохраняли в первичной культуре. Мембранные потенциалы снижались, а потенциалы действия возникали при освещении. Световая адаптация снижала ответ и увеличивала латентный период. При фиксации напряжения на мембране нейроны отвечали увеличением входящего тока. Ответы были более медленные, а амплитуда их была меньше, чем у специализированных фоторецепторов. Парные клетки и кластеры монополярных нейронов тоже отвечали на освещение. Эти фоточувствительные монополярные нейроны, вероятно, являются выходными нейрон-

нами окулярных циркадианных часов. Хотя у аплизии описаны центральные фоточувствительные нейроны, работа Jacklet and Barnes (1993) — это первое исследование изолированных нейронов сетчатки.

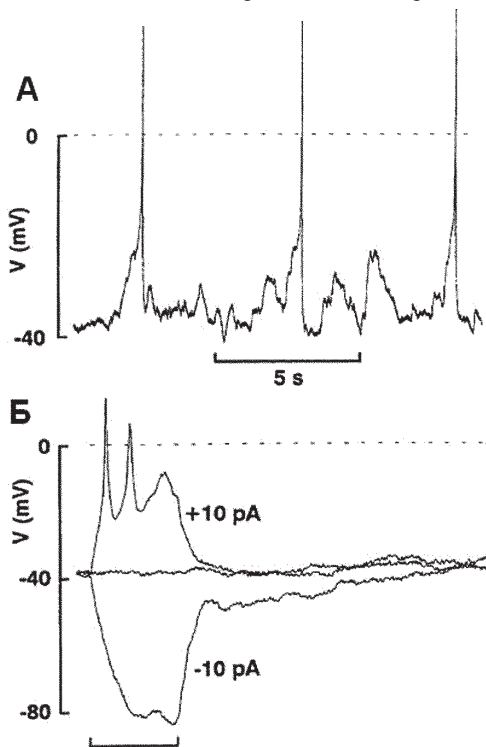


Рис. 13.31. Пейсмекеры сетчатки. Регистрация электрической активности изолированного пейсмекерного нейрона сетчатки. А — спонтанная активность, зарегистрированная в темноте. Уровень МП клетки около -40 мВ, спонтанная активность периодически достигает порога генерации, который находится около -30 мВ. ПД, как правило, достигает максимума между +10 и +20 мВ. Б — ответ пейсмекерного нейрона на инъекцию тока. Нейрон проявляет слабую фоновую активность на уровне МП -40 мВ, но инъекция деполаризационного тока силой 10 пА, длительностью 600 мс вызывает повторные слайки. Инъекция -10 пА гиперполяризационного тока смещает мембранный потенциал примерно до -80 мВ. После инъекции гиперполяризационного тока восстановление МП до исходного уровня происходит медленно, с характерным затуханием (по Barnes S, Jacklet JW Ionic currents of isolated retinal pacemaker neurons: projected daily phase differences and selective enhancement by a phase-shifting neurotransmitter. — J Neurophysiol. 1997 Jun; 77 (6): 3075-84.).

Изолированные пейсмекерные нейроны сетчатки отличались по форме, размеру и характеристикам электрической активности от других диссоциированных клеток глаза аплизии. Клеточное тело имеет сферическую форму диаметром 20 микрометров. В них отсутствует окраска, но содержатся маленькие темные включения. Изолированные нейроны генерируют спонтанные потенциалы действия, амплитуда которых достигает 50-60 мВ, а потенциал покоя примерно -40 мВ (у пейсмекерных нейронов, зарегистрированных от интактной сетчатки, МП равен -30 - -60 мВ. На рис. 13.31 показан пример активности изолированного пейсмекерного нейрона с шумом потенциала покоя, который позволяет клетке периодически превышать порог генерации (порог примерно -30 мВ). Потенциал действия обычно достигает максимума между +10 и +20 мВ. Как показано на рисунке, инъекция деполаризационного тока вызывает у пейсмекерного нейрона генерацию спайков, которые проявляют аккомодацию во время коротких залпов вызванной активности. После инъекции гиперполяризационного тока восстановление потенциала покоя происходит в течение 1-2 с. Такое поведение клетки является результатом активации и последующей инактивации быстрого калиевого тока.

Глаз аплизии экспрессирует четкий циркадианный ритм нейронной активности. Для идентификации ионных токов, которые могут играть роль в механизме циркадианных часов, были проведены опыты на первичной культуре диссоциированной сетчатки. Пейсмекерные нейроны имели потенциал покоя около -40 мВ и продуцировали потенциалы действия в темноте с частотой менее 1 Гц. Инъецированный деполаризационный ток приводил к повышению скорости разрядов. Гиперполяризационный ток сопровождался медленно угасающей (1-3 с) следовой гиперполяризацией. При помощи фиксации напряжения на мембране были получены характеристики четырех видов ионных токов: кальциевого тока, вольт(потенциал)-управляемого калиевого тока, активируемого гиперполяризацией тока хлора и А-тока. Фазово-зависимый калиевый ток показал, что каждый ретинальный пейсмекерный нейрон содержит циркадианные часы, но подтверждение может быть получено только при дальнейшем изучении индивидуальных пейсмекерных нейронов, изолированных полностью от других клеток в первичной культуре. Серотонин увеличивал калиевый потенциал-зависимый ток на 29%, что согласуется с сообщениями о том, что серотонин подавляет активность зрительного нерва и сдвигает фазы циркадианного ритма, регистрируемого от интактного глаза. Усиление калиевого

тока, вероятно, приводит к гиперполяризации, а это и требуется для фазового сдвига. Из проведенных экспериментов можно заключить, что потенциал-зависимый калиевый ток контролируется посредством циркадианных часов частично, и это может быть необходимым элементом проводящего пути, который активизируется во время вызываемого серотонином фазового сдвига (Barnes, Jacklet, 1997).

Пейсмекерные нейроны сетчатки являются идеальным объектом для изучения ионной основы циркадианного ритмогенеза, что связано с их компактными размерами и высоким входным сопротивлением. В опытах обнаружили, что входное сопротивление от 6,6—+6.6 Гом. Для описания ионных токов применили метод фиксации напряжения на мембране нейрона. В опытах были определены свойства четырех видов ионных токов.

Пейсмекеры сетчатки и циркадианные ритмы. Для избирательного разделения функции циркадианного осциллятора глаза аплизии от некоторых его других функций: синхронной генерации сложного потенциала действия, ответа на свет, синаптического взаимодействия между фоторецепторами и выходными нейронами и берстовым пейсмекерным механизмом — использовалась ионизирующая радиация. Низкая доза радиации дает минимальное влияние на циркадианный ритм частоты сложного ПД, измеренной при регистрации от оптического нерва, в то время как радиация высокая уничтожает ритм, не затрагивая четырех других функций глаза. При средней дозе выживает примерно 50% осцилляторной функции. Осцилляции облученного глаза не полностью десинхронизируются, когда ритм уничтожается, потому что *in vitro* воздействие свет-темнота не восстанавливает свободнотекущую ритмичность. Результаты заставляют предполагать, что существует несколько циркадианных осцилляторов в глазу: большая часть их находится сзади вблизи оптического нерва. Тот факт, что восстановление может происходить *in vivo*, заставяет предполагать, что осцилляторы могут вовлекать молекулы нуклеиновых кислот (Woolum and Strumwasser, 1980).

Циркадианные часы регулируют множество биохимических и физиологических процессов. Ретинальные нейроны, особенно фоторецепторные клетки, содержат автономные циркадианные часы, которые контролируют экспрессию иодопсина, cFos экспрессию, cAMP уровень и синтез мелатонина. Культура фоторецепторных клеток, приготовленная из сетчатки эмбриона цыпленка и запущенная ежедневным циклом смены свет-темнота, продемонстрировала циркадианные ритмы cAMP уровней и активности argylalkylamine N-acetyltransferase (AANAT), ключевого регулятора энзимов в синтезе мелатонина. Культура фоторецепторов ин-

кубировалась в течение 14 часов. В течение 8 дней создавался по 10 часов цикл «свет-темнота». Затем культура переводилась в условия постоянной (24-часовой) темноты. Клетки собирали каждые 4 часа как в фазе чередования освещения, так и в темноте и изолировали РНК. сДНК выделялась из каждого образца, транскрипция часового гена и AANAT измерялась при помощи реакции в реальном времени. Уровень мелатонина определяли через каждые три часа. Оказалось, что клетки, культивируемые при экспозиции циклов свет-темнота, демонстрировали ритмическую экспрессию часовых генов. «Часовая» информационная РНК достигала максимума ночью в культуре «день-ночь», но была аритмичной в культуре, пребывавшей все 24 часа в темноте. Транскрипция генов *Cry1* и *Per2* снижалась по амплитуде в постоянной темноте, быстро возрастала рано утром и снижалась ночью. Ритм *Per2* снижался по амплитуде в постоянной темноте. Уровень *Cry1* и *Per2* транскрипции стимулировался при помощи световой экспозиции ночью. Ритмическая экспрессия часовых генов и AANAT не наблюдалась в культуре, не экспонированной в цикле день-ночь. Культура фоторецепторов содержит полную циркадианную систему, которая корректируется циклами свет-темнота и имеет основной часовой механизм и циркадианный выход в виде синтеза мелатонина (Chaugasia et al., 2006).

Трансплантация ткани шишковидной железы в переднюю камеру глаза быстро восстанавливает ритмичность у голубей, аритмичных в результате экстирпации шишковидной железы. Так же передается фаза ритма птицы-донора ритму птице-хозяину. Таким образом, трансплантированная шишковидная железа не дает возможности в точности экспрессироваться ритму, а, скорее, передается осцилляциям, которые контролируют сохранность циркадианной системы и сохраняют способность к самоподдерживаемой ритмичности. Долговременная регистрация, во время которой голубей подвергали воздействиям разнообразных световых условий, обнаружил значительное сходство между циркадианной системой нормальных птиц и птиц, перенесших трансплантацию шишковидной железы (Zimmerman and Menakert, 1979).

Ритмические изменения в транскрипции serotonin N-acetyltransferase у клеток шишковидной железы цыплят контролируется осциллятором, локализованным в самих пинеалоцитах, которые включены в часовые гены. Для регуляции ретинального мелатонинового ритма постулируется необычный, зависящий от часов проводящий путь. У цыплят ретинальные фоторецепторные клетки и пинеалоциты, ген AANAT экспрессируется вместе с часовыми генами (Toller et al., 2006).

13.11. Пейсмекеры коры (на примере черепахи)

Зрительные стимулы вызывают осцилляции мембранного потенциала нейронов коры. Это явление описано для нескольких видов животных (PRechtl et al., 2000). У черепахи эти осцилляции имеют форму синусоид. Такие волны могут быть следствием работы пейсмекера, который генерирует периодические импульсы возбуждения, распространяющиеся по системе возбудимой нервной ткани, или же они могут быть результатом продолжительного и, возможно, перестраиваемого фазового сдвига по нейронной системе с множеством слабо связанных нейронных осцилляторов. В работе PRechtl et al. (2000) было выполнено одновременное измерение локального полевого потенциала на разных глубинах коры. Измерения при однократном радиальном погружении показали присутствие широкополосных источников тока с центром частот около 20 Гц, который активируется при предъявлении зрительных стимулов. Спектральная когерентность между источниками на двух достаточно хорошо разделенных локусах вдоль рострально-каудальной оси показывает присутствие систематического временного различия между локализованными кортикальными осцилляторами. Эти множественные осциллирующие источники тока и их временное различие в тангенциальном плане интерпретируются как нейронная активность, которая лежит в основе волнового движения, показанного в работе.

Вызываемые стимулом осцилляции являются примечательным свойством нейронной динамики многих сенсорных систем. Например, описаны осцилляторы обонятельной системы черепахи и других животных (Lam et al., 2000). У млекопитающих осцилляции возникают не только в зрительной, но и в зрительно-моторной системе. В дальнейшем магнитуда и пространственное распространение этих осцилляций модулируются зрительными стимулами. Теоретические исследования нейронных цепей с краткими взаимодействиями показывают, что такие волны являются эмерджентным свойством системы с пространственно ограниченными связями.

13.12. Пейсмекер и дыхание

Дыхательные движения у млекопитающих регулируются паттернами ритмической активности нейронов, находящихся в пре-Больцингеровом комплексе ствола мозга. Центральный вопрос заключается в следующем: действительно ли ритм генерируется нейронной системой берстовых (залповых) пейсмекерных нейронов, соединенных возбуждательными синапсами, которые и синхронизируют пейсмекерную ак-

тивность. В экспериментах Koshiya and Smith (1999) при помощи кальций-чувствительного красящего вещества были помечены дыхательные нейроны срезов ствола мозга новорожденных грызунов. Одновременно использовались регистрация электрической активности и инфракрасное сканирование нейронов. Для идентификации и управления эффективностью синаптических связей использовали разные фармакологические вещества. Результаты показали, что частота залповой пейсмекерной активности, характерной для этих нейронов, зависит от уровня мембранного потенциала (рис. 13.32). Исследователи предполагают, что основной нейронный механизм регуляции дыхания связан с пейсмекерными нейронами, объединенными синаптическими входами.

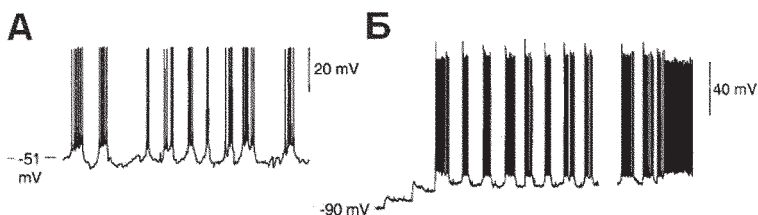


Рис. 13.32. Дыхание. Паттерны активности берстового пейсмекера в пре-Большингеровом комплексе. А и Б — дыхательные пейсмекерные нейроны при деполяризации мембраны проявляют эктопические осцилляторные берсты между фазами дыхательного разряда и проявляют врожденные вольт-зависимые осциллирующие берсты при деполяризационном сдвиге мембранного потенциала (Б), когда блокируется сетевая и синаптическая передача. Пейсмекерные нейроны проявляют мультифункциональные паттерны активности (покой, залпы и разряды ПД на фоне тонических сдвигов МП). (по Christopher A. Del Negro, 1, Naohiro Koshiya, 1, 2, Robert J. Butera, JR., 3 AND Jeffrey C. Smith1 Persistent Sodium Current, Membrane Properties and Bursting Behavior of Pre-Boetzing Complex Inspiratory Neurons In Vitro J Neurophysiol 88: 2242-2250, 2002; 10.1152/jn.00081.2002).

Дыхательные системы ствола мозга могут действовать во множестве функциональных состояний, обеспечивая работу различных нейронных механизмов. Эти механизмы исследовались *in situ* на препарате «ствол мозга — спинной мозг» крысы (Rybak et al., 2007). Использовались различные пересечения ствола мозга и введение рилузола, блокатора постоянного натриевого тока. Драматическая трансформация механизмов ритмогенеза и паттернов ритмов дыхания наблюдалась после удалении моста и последующей перерезки продолговатого мозга вниз к ростральной оконечности пре-Большингерового комплекса. Результаты опы-

тов показали, что дыхательная система ствола мозга имеет пространственную организацию, распространяясь от роstralной части моста до вентральной дыхательной группы (VRG), в которой каждое функциональное отделение контролируется при помощи более роstralных отделов. Разработанная модель предсказывает континуум состояний дыхательных систем, подразумевая разный вклад врожденных свойств нейронов и синаптического взаимодействия для генерации и контроля дыхательных ритмов и паттернов.

Нейронные ритмы дыхания у млекопитающих генерируются нейронными сетями, которые расположены в стволе мозга. Тонкие мембранные и синаптические свойства составляющих их нейронов определяют механизм ритмической генерации. Пре-Ботцингеров комплекс содержит ряд дыхательных нейронов, которые проявляют осцилляторное берстовое поведение — это пейсмекерные нейроны (Johnson et al. 1994). Ритмическая генерация не требует опосредованного хлоридами синаптического торможения, и дыхательная активность синхронизируется через возбуждательные синаптические контакты между этими нейронами (Koshiya N, Smith JC, 1999). В этом процессе участвуют и непейсмекерные нейроны. Поэтому многие исследователи считают, что возбуждательные нейронные сети пре-Большингера комплекса содержат генерирующую ритм сердцевину и ритм возникает на популяционном уровне из динамического взаимодействия врожденных свойств клеток и взаимодействия посредством возбуждательных синапсов в системе.

Была выдвинута гипотеза о том, что пейсмекерные нейроны пре-Большингера комплекса формируют сердцевину генератора дыхательного ритма (Johnson et al., 1994). По предсказаниям гипотезы, осцилляторное поведение многих дыхательных нейронов может сохраняться при отсутствии синаптической передачи. В работе Johnson et al. (1994) на срезах продолговатого мозга крысы решались такие вопросы: действительно ли нейронам пре-Большингера комплекса присущи свойства пейсмекерных нейронов, являются ли эти свойства общими для нейронов, участвующих в регуляции дыхания, какова специфика пространственно-временных паттернов активности этих нейронов. Опыты показали, что все нейроны, которые омывались физраствором с низким содержанием ионов кальция или с высоким содержанием магния, выключали эндогенные дыхательные синаптические входы. Некоторые нейроны в растворе с низким содержанием кальция продолжали генерировать ритмические залпы потенциалов действия. Специальные контроли позволили выделить среди этих клеток несколько специализаций:

дыхательные, тонические экспираторные и тонические нейроны. Полученные результаты согласуются с предположением о том, что инспираторные осцилляторы включают специализированные клетки с врожденными осцилляторными свойствами.

Роль пейсмекерных свойств нейронов в генерации дыхательного ритма позвоночных не ясна. Чтобы исследовать этот вопрос в сравнительном аспекте, ствол мозга взрослой черепахи изолировался *in vitro*, и регистрировалась активность корешков подъязычного нерва. В опытах Johnson et al. (2007) выяснялось, всегда ли частота берстов могла быть изменена при условиях, о которых известно, что они изменяют активность дыхательных пейсмекерных нейронов у млекопитающих (повышение концентрации KCl или блокада специфических входящих токов). Полученные данные наиболее соответствуют предположению о том, что генерация дыхательного ритма черепахи требует активируемых Ca²⁺ каналов, а не пейсмекерных нейронов, которые в данном случае формируют системы. Тем не менее при блокаде синаптического торможения, по-видимому, генератор ритма трансформировался в управляемую пейсмекером нейронную систему, которая требует Ca²⁺ активируемых ионных каналов.

На препарате среза продолговатого мозга *in vitro* были идентифицированы две группы нейронов, связанных с дыханием. Одна группа зависима от кальций-активируемого неспецифического катионного тока, который блокируется flufenamic-кислотой. По предположению, эта группа нейронов существенна для апнии, но не для удушья. Вторая группа нейронов зависит от проводимости через постоянные калиевые каналы, которые блокируется рилузолем. Эта группа, по предположению, участвует и в явлении апнии, и удушья (St-John, 2008).

Pesa and Ramirez (2004) исследовали влияние нейромедиаторов на активность нейронов дыхательного центра ствола мозга. Они использовали для этой цели вещество P, о котором известно, что оно обладает возбуждающим эффектом на респираторные системы. Опыты выполняли на срезах мозга мыши. Эти опыты показали, что степень пейсмекерной активности дыхательных систем не фиксирована, а динамично регулируется при помощи нейромедиаторов, например, субстанции P. Эта находка может иметь клиническое применение для синдрома Ретта, при котором уровень субстанции P вместе с другими нейромодуляторами снижен в стволе мозга. Многие виды ритмического поведения постоянно модулируются эндогенными пептидами и аминами, но всегда ли нейромодуляторы критичны для выражения ритмического поведения, часто ос-

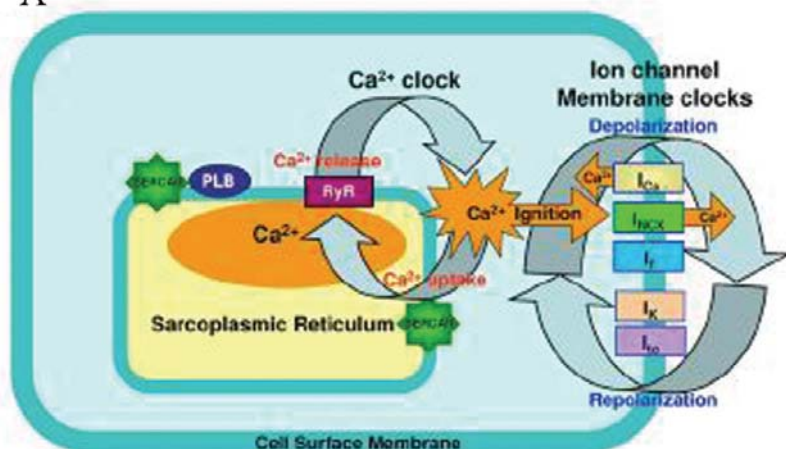
тается неясным, в особенности у млекопитающих. В работе Gryba et al. (2007) исследуются дыхательные нейронные системы, которые были изолированы в препарате спонтанно ритмического среза продолговатого мозга мыши. В контрольных условиях дыхательная система генерировала фиктивную апническую активность. У предварительно дегипофизированных животных эта активность зависит от двух типов нейронов. Берстовая активность одного вида нейронов зависит от постоянного натриевого тока и нечувствительна к блокаде кальциевых каналов кадмием, а берстовый механизм второго типа чувствителен к кадмию и кальций-зависимому неспецифическому блоктору тока катионов flufenamic-кислоте. Эти результаты поддерживают гипотезу о том, что два типа берстового пейсмерного механизма лежат в основе фиктивной апнии, а за удушье отвечает только один механизм.

13.13. Пейсмер-регулятор работы внутренних органов

Кардиопейсмер. Долгое время считалось, что сердечный ритм развивается на поверхностной мембране пейсмерных клеток сердца и управляется при помощи потенциал-зависимых ионных каналов (мембранными часами). Современное представление об инициации и регуляции ритмических биений сердца развилось из переплетений теории и экспериментальных данных за 200 лет. Вскоре после развития количественной мембранной теории Ходжкина и Хаксли в 1952 году механизмом инициации кардиопейсмеров считалось взаимодействие потенциал-зависимых ионных мембранных каналов. С тех пор изучение пейсмерной клетки сфокусировалось на этом ограниченном мембранной пейсмерном механизме. Хотя ансамбль потенциал-зависимых и зависимых от времени ритмов ионных каналов поверхностной мембраны (рис. 13.33) представляют немедленную причину, достаточную для выполнения потенциала действия в синоатриальном узле (SANC), не обязательно, что ансамбль ионных каналов является формальной, то есть иницирующей причиной спонтанных, ритмичных ПД.

Результаты последних исследований позволили прийти к выводу о том, что ритм иницируется, сохраняется и регулируется осцилляторами высвобождения Ca^{2+} (Ca^{2+} часы) из саркоплазматического ретикулума, основного хранилища ионов кальция внутри клеток синоатриального узла, первичных пейсмеров сердца. Активация локального осциллирующего высвобождения кальция не зависит от деполяризации мембраны и управляется высоким уровнем основного состояния фосфорилирования Ca^{2+} циклических протеинов. Высвобождение вы-

A



Б

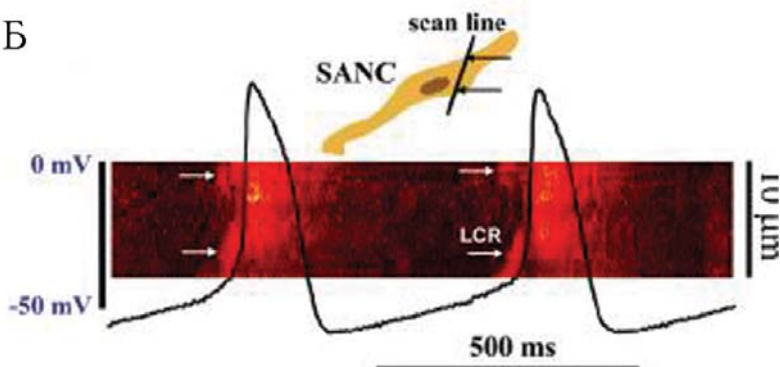


Рис. 13.33. Кардиопейсмекар. А: Схематическое изображение идеи о том, что Ca^{2+} часы активируют ионные каналы мембранных часов, чтобы вызвать нормальную автоматия сердечных пейсмекарных клеток. Следы на планке Б — это потенциалы действия, одновременно зарегистрированные в перфорированной конфигурации фиксации напряжения. (по Victor A. Maltsev, PhD and Edward G. Lakatta, MD Normal heart rhythm is initiated and regulated by an intracellular Calcium clock within pacemaker cells Heart Lung Circ. 2007 October; 16(5): 335-348).

зывает кальциевые волны под клеточной поверхностной мембраной в течение более поздней фазы диастолической деполяризации и активизирует входящий Na/Ca обмен, результирующийся во входящем мембранном токе, активирующем генерацию ПД. Градация скорости, с которой Ca²⁺ часы завершают циклы, зависит от фосфорилирования. Это и есть главный регуляторный механизм нормальной пейсмекерной скорости и ритма. Четкая регуляция пейсмекерной функции гарантируется тесной интеграцией Ca²⁺ и мембранных часов. Форма потенциалов действия и поток ионов настраиваются мембранными часами, чтобы сохранить работоспособность Ca²⁺ часов, которые действуют так, что вовремя и точно включают мембранные часы на генерацию потенциала действия (Maltsev et al., 2007).

Пейсмекеры кишечного тракта. Внутритканевые клетки Кахала (ICC) — это пейсмекерные клетки кишок. Они имеют особые свойства, которые делают их уникальными по способности генерировать и распространять медленные волны по гастроинтестинальным мышцам. Медленные волны определяют частоту фазовых сокращений желудка, кишечника и толстой кишки. Медленные волны также определяют направление и скорость распространения перистальтической активности в соответствии с нервной системой брюшины. Медленноволновая активность желудочно-кишечного тракта, продуцируемая пейсмекерными клетками, может быть отражена на электрогастрограмме (Camborová et al., 2003).

Пейсмекеры мочевого пузыря. Топографическое изучение двух крайних областей мочеточника кошки, крысы и морской свинки (пиелоретеральное соустье и околопузырная область) выявило наличие автономных пейсмекерных зон. Верхний ритмоводитель органа характеризуется возникновением медленноволновых колебаний мембранного потенциала, на основе которых впоследствии синхронно генерируются потенциалы действия, соответственно создающие перистальтику мочеточника. В отличие от описанного пейсмекера в околопузырной зоне наблюдается лишь спайковая активность, которая находится под влиянием околопочечного ритмогенеза. Возникает вопрос о наличии сопутствующей спайковой активности медленноволнового автоматизма, подобной вышеописанной в картине ритмоводителей пиелоретерального соустья, который и рассматривается в работе Казаряна и др. (2007).

В опытах на взрослых кошках в области соединения мочеточника с мочевым пузырем выявлены медленноволновые пейсмекерные электрические колебания. Показано, что их ритмика (11.5 ± 1.3 колеб./мин., $n = 9$) вдвое меньше частоты основного околопочечного пейсмекера. В

граничащих с исследуемым ритмоводителем зонах мочевого пузыря обнаружена спайковая активность, аналогичная близлежащему участку мочеточника. Во всех экспериментах отмечается согласованная деятельность медленноволновой пейсмерной активности нижней области мочеточника со спайками из приграничной зоны мочевого пузыря. Корреляция же быстрой активности участка мочеточника, находящегося в непосредственной близости к исследуемой зоне, с медленным автоматизмом наблюдается при перерезке органа в средней его части. В этих условиях показано увеличение частоты ритмогенеза медленноволновой активности (до 14 ± 1.7 колеб./мин, $n = 9$).

13.14. Пейсмерная пластичность

Приведенные в обзоре материалы дают возможность утверждать, что роль пейсмера в осуществлении самых разных функций нервной системы исключительна. В общем виде нейрон представляется состоящим из электровозбудимой мембраны, химически возбудимой мембраны и локуса генерации пейсмерной активности. Пейсмерный механизм, взаимодействующий с хемовозбудимой и электровозбудимой мембраной, превращает нейрон в устройство со «встроенным управляемым генератором» (Соколов и Незлина, 2007). Принципиально новое, что вносит эндогенный пейсмер в функционирование нейрона, заключается в том, что пейсмерный потенциал превращает нейрон в генератор (Пейсмерный потенциал нейрона, 1975, Соколов и Ярмизина, 1972). Представление о нейроне как управляющем и управляемом генераторе заставляет иначе взглянуть на организацию многих функций мозга.

Пейсмер обладает высокой степенью пластичности. Опыты на изолированных нейронах показывают это его качество наиболее эффективно: у клеток, «освобожденных» от синаптических влияний, способности к обучению сохраняются на высоком уровне. Представлены ассоциативные и неассоциативные формы обучения, а также формирование многих следовых эффектов. Если обратиться к современным представлениям о нейронных механизмах памяти, то обнаружим, что локусом пластичности во многих исследованиях является синапс (Antonov et al., 2001, Martin et al., 2000). Именно с различными изменениями в области синаптических контактов связывают все наиболее изученные формы обучения — LTP, ассоциативное обучение, привыкание. Не подвергая сомнениям роли пластичности синапсов, можно представить такое развитие событий: при обучении синапсы претерпевают ряд тонких функциональных изменений, эти изменения подстраивают моди-

фицируемую синаптическую эффективность к имеющемуся в нейроне «пейсмекерному ядру», которое представлено активирующимся осциллятором (генетически закрепленным ответом). «Считывание» содержимого «пейсмекерного ядра» запускается синаптическим входом с определенными свойствами. Модификации, претерпеваемые синапсом, создают его сигналам условия для их доступа к пейсмекерному исполнению: при обучении синаптический вход переходит в категорию имеющих влияние на эндонейрональную активность. В результате обучения происходит создание таких условий, в которых возможно эффективное взаимодействие между эндогенными пейсмекерами и определенными (занятыми в обучении) синаптическими входами. Нарушение синапто-пейсмекерного взаимодействия приводит к нарушению памяти на уровне поведения. Пластичность нейронной системы основана на установлении взаимодействия между модифицируемыми синаптическими входами и пластичными эндогенными пейсмекерами. Поэтому можно различать два механизма пластичности: один обеспечивает локальные изменения определенного синаптического контакта, а механизм второго уровня устанавливает взаимодействие между модифицируемым синапсом и «пейсмекерным ядром».

Выводы

- Пейсмекер — самая древняя форма эндонейрональной активности. Она существует уже у прокариотов.
- Пейсмекер генетически задан.
- Механизмы реализации пейсмекерных осцилляций сформированы в эволюции: каналы специфической ионной проводимости, необходимые для его актуализации, появляются у прокариотов, сохраняются (и обогащаются новыми формами) при переходе к многоклеточности.
- Пейсмекерный механизм реализует многие функции, в том числе запуск процесса клеточной дифференциации.
- В эволюции при переходе к многоклеточной развитой нервной системе пейсмекер становится свойством многих клеток, принадлежащих разным мозговым структурам. Функции пейсмекера определяются задачами этих структур.
- Пейсмекер — транслятор генетической памяти. Активация пейсмекера происходит через эндогенно возникающие сигналы и через определенные синаптические связи. Обучение — один из способов экзогенного (через синапсы и экстраклеточное пространство) влияния на пейсмекерный механизм.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Пейсмекерный потенциал нейрона / Под ред. Е. Н. Соколова, Н. Н. Тавхелидзе. Тбилиси, Мецниереба, 1975.
2. Соколов Е. Н. Восприятие и условный рефлекс: Новый взгляд // М.: УМК «Психология». 2003.
3. Тушмалова Н. А. Основные закономерности эволюции поведения беспозвоночных // Физиология поведения. Л., 1987.

Дополнительная

1. Бурлакова Е. Б., Конрадов А. А., Мальцева Е. Л. Сверхслабые воздействия химических соединений и физических факторов на биологические системы // Биофизика. 2004. Т. 49., 24.
2. Бурлакова Е. Б., Греченко Т. Н., Соколов Е. Н., Терехова С. Ф. Влияние ингибиторов радикального окисления липидов на электрическую активность изолированных нейронов *Helix pomatia* // Биофизика, 1986, т. 31, №5, 921.
3. Греченко Т. Н. Изолированные нейроны в исследованиях памяти // Вестн. Моск. Универ., сер.14, психология, 2001, №1, 64-80.
4. Греченко Т. Н. «Условный ответ» электровозбудимой мембраны изолированных нейронов виноградной улитки // ВВД, 1984, т. 36, №5, 982-985.
5. Греченко Т. Н., Кондратьева С. И. О механизме кратковременной памяти. Психол.ж., 1981, т. 2, №3, 95-99.
6. Греченко Т. Н., Соколов Е. Н. Эндонейрональная пластичность изолированных нейронов виноградной улитки. // ВВД, 1979, т. 29, №5, 1093-1095,
7. Данилова Н. Н. Роль высокочастотных ритмов электрической активности мозга в обеспечении психических процессов психология // Журнал Высшей школы экономики. 2006. Т. 3, № 2. С. 62-72, 24, 31.
8. Данилова Н. Н. Гамма-осцилляция мозга в когнитивном контроле восприятия // Третья международная конференция по когнитивной науке. Москва, 2008. Тезисы докладов, 1 том, С.248-249.
9. Доронин В. К., Зозулин С. В. Гетерогенность внутриклеточных потенциалов инфузории *Spirostomum ambiguum* // Эволюц. биохим. физиол., 1976, 12 (6), 539-543.
10. Иваницкий А. М., Подклетова И. М., Таратынова Г. М. Исследование динамики внутрикоркового взаимодействия в процессе мыслительной деятельности // Журн. высш. нервн. деят. 1990. Т. 40. № 2. С. 230-237.
11. Казарян К. В., Ванцян В. Ц., Тиранян А. С., Акопян Р. Р. Исследование электрической активности области соединения мочеточника с мочевым пузырем и приграничных зон у крыс // Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова. 2007. Т. 93. № 7. С. 799-805.
12. Котов Н. В., Волченко А. М., Давыдов Д. А., Костылева Е. К., Садыков И. Х., Платов К. В. Двигательная активность параметий // Биофизика. 2000. Т. 45(3). С. 514-519.

13. Коштыянец Х. С. и Кокина Н. Н. О действии антихолинэстеразы и ацетилхолина на ритмическую электрическую активность инфузории *Opalina gaganum* // *Общ. биол.*, 1962, 23, 74-76.

14. Кузнецов А. В. Осцилляторные нейронные сети. математические результаты и приложения, 2001. <http://masters.donntu.edu.ua/2001/fvti/kuznetsov/diss/lib/neuroosc/>

15. Лебедев А. Н. Михаил Николаевич Ливанов (к 100 годовщине научной, научно-организационной педагогической и общественной деятельности // *Усп. физиол. наук*, 2006, июль-сент., 37 (3), 87-94.

16. Иваницкий А. М., Лебедев А. Н. Гармония ритмов мозга. К 100-летию со дня рождения академика М. Н. Ливанова // *Вестник Российской Академии наук*. Т. 77, №9. 2007. С. 831-836.

17. Литвинов Е. Г. Пейсмекерный потенциал в организации дуги безусловного рефлекса. Пейсмекерный потенциал нейрона. Тбилиси, Мецниереба, 1975, 130-176.

18. Мартинес-Солер Р., Шехтер Е. Д. Химическая чувствительность и пластичность нейрона // *Пейсмекерный потенциал.*, Тбилиси, Мецниереба, 1975, с. 109-129.

19. Подладчикова Л. Н. , Ивлев С. А. , Дунин-Барковский В. Л. Сходство и различие активности клеток Пуркинье мозжечка, управляемых общей лианной клеткой http://nisms.krinc.ru/papers/icnc02_2.pdf, 23

20. Свицерский В. Л., Лобзин Ю. В., Горелкин В. С., Плотникова С. И. Двигательная активность инфузорий: теоретические и прикладные аспекты // *Эволюц. биохим. физиол.*, 2007, 43(5), 379.

21. Соколов Е. Н., Незлина Н. И. Долговременная память, нейрогенез и сигнал новизны // *Высш. нервн. деят.* 2003. 53 (4). 451-463.,

22. Соколов Е. Н., Незлина Н. И. Условный рефлекс: детектор и командный нейрон // *Высш. нервн. деят.* 2007, Jan.-Feb.; 57 (1): 5-22.

23. Соколов Е. Н., Ярмизина А. Л. Пейсмекерный потенциал в процессах кратковременной памяти // *Механизмы формирования и торможения условных рефлексов.* М.: Наука, 1973, с. 163.

24. Соколов Е. Н., Ярмизина А. Л. Соотношение синаптических и пейсмекерных потенциалов у моллюсков // *ВНД*, 1972, т. 21, №3, с. 536-547,

25. Ярмизина А. Л. Пластичность нейрона // *Пейсмекерный потенциал нейрона*, 1975, Мецниереба, Тбилиси, С. 87-108.

26. Allen GC, Farnell Y, Bell-Pedersen D, Cassone VM, Earnest DJ. Effects of altered Clock gene expression on the pacemaker properties of SCN2.2 cells and oscillatory properties of NIH/3T3 cells. *Neuroscience*. 2004; 127 (4): 989-99.

27. Alving B. O. Spontaneous activity in isolated somata of *Aplysia* pacemaker neurons *J Gen Physiol*. 1968, Jan.; 51 (1): 29-45.

28. Antonov I, Antonova I, Kandel ER, Hawkins RD. The contribution of activity-dependent synaptic plasticity to classical conditioning in *Aplysia*. *J Neurosci*. 2001 Aug. 15; 21 (16): 6413-22, 32, 36.

29. Arinaminpathy Y., Philip C. Biggin, Indira H. Shrivastava, Mark S.P. Sansom__ A prokaryotic glutamate receptor: homology modelling and Molecular dynamics simulations of GluR0 FEBS Letters 553 (2003) 321-327, 1.
30. Armus HL, Montgomery AR Aversive and attractive properties of electrical stimulation for *Paramecium caudatum*. *Psychol Rep.* 2001. Oct.; 89 (2): 342-4, 32, 36.
31. Armus HL, Montgomery AR, Gurney RL Discrimination learning and extinction in paramecia (*P. caudatum*). *Learn Behav.* 2006, Nov.; 34 (4): 361-5. 32, 36.
32. Arvanitaki A, Chalazonitis N Inhibitory processes of «intrinsically generated current» of low frequency from autorythmic neurons . *C R Seances Soc Biol Fil.* 1964;158:1674-7, 30.
33. Aton S, Colwell C, Harmar A, Waschek J, Herzog E Vasoactive intestinal polypeptide mediates circadian rhythmicity and synchrony in mammalian clock neurons. *Nat Neurosci.* 2005, 8. 476-483., 12.
34. Aton SJ, Herzog ED Come together, right...now: Synchronization of rhythms in a mammalian circadian clock. *Neuron.* 2005, 48. 531-534., 11.
35. Audesirk G. and Strumwasser F. Circadian Rhythm of Neuron R15 of *Aplysia californica*: In Vivo Photoentrainment *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1975. Vol. 72, No. 6, pp. 2408-2412, 18.
36. Bal T, McCormick DAMechanisms of oscillatory activity in guinea-pig nucleus reticularis thalami in vitro: a mammalian pacemaker. *J. Physiol.* 1993, Aug.; 468: 669-91., 1.
37. Balsalobre A, Damiola F, Schibler U (1998) A serum shock induces gene expression in mammalian tissue culture cells. *Cell* 93: 929-937, 2.
38. Barnard Alun R., Nolan Patrick M. When Clocks Go Bad: Neurobehavioural Consequences of Disrupted Circadian Timing *PLoS Genet.* 2008. May 30; 4 (5).
39. Barnes S, Jacklet JW Ionic currents of isolated retinal pacemaker neurons: projected daily phase differences and selective enhancement by a phase-shifting neurotransmitter. *J Neurophysiol.* 1997, Jun.; 77 (6): 3075-84.
40. Baumgarten R.I.von, Takeda R., Chen C.F. Isolation of pacemaker neurons in *Aplysia californica* // *Feder.Proc.*, 1971, vol. 30, pp. 490, Abs.
41. Bernard S., Gonze D., Cajavec B., Herzog H., Kramer A. Synchronization-Induced Rhythmicity of Circadian Oscillators in the Suprachiasmatic Nucleus *PLoS Computational Biology.* April 2007. Volume 3. Issue 4. e68 668-679.
42. Brazhnik ES, Fox SE Intracellular recordings from medial septal neurons during hippocampal theta rhythm. *Exp Brain Res.* 1997, May; 114 (3): 442-53, 16.
43. Brehm P. and Eckert R. An electrophysiological study of the regulation of Ciliary beating frequency in *paramecium* // *J. Physiol.* (1978), 283, pp. 557-568.
44. Brian D. Burrell,1 Christie L. Sahley, 3 and Kenneth J. Muller1, 2 Non-Associative Learning and Serotonin Induce Similar Bi-Directional Changes in Excitability of a Neuron Critical for Learning in the Medicinal Leech *The Journal of Neuroscience*, February 15, 2001, 21 (4): 1401-1412.

45. Brucet V. G. and Pittendrigh C. S. Temperature independence in a unicellular «clock» *PROC. N. A. S. 1956. VOL. 42, 676-682, 1.
46. Brugger P., Macas E., Ihlemann J. Do sperm cell remember? *Behav. Brain Res.*, 2002, Oct 17; 136 (1): 325-328.
47. Brunner M, Simons MJ, Meroow M. Lego clocks: building a clock from parts. *Genes Dev.* 2008, Jun 1; 22 (11): 1422-6., 2.
48. Вьнning E Ёber die Erbllichkeit der Tagesperiodizitdt bei den Phaseolus Вддtern. *Jb wiss Bot* 1932 81: 411-418, 2.
49. Вьнning, E. (1973). *The Physiological Clock*. 3rd ed. (New York: Springer-Verlag, 30.
50. Cacciatore TW, Rozenshteyn R, Kristan WB Jr Kinematics and modeling of leech crawling: evidence for an oscillatory behavior produced by propagating waves of excitation. *J Neurosci.* 2000. Feb 15; 20 (4): 1643-55., 14.
51. Camborovб P, Hubka P, Sulkovб I, Hulнn I. The pacemaker activity of interstitial cells of Cajal and gastric electrical activity. *Physiol Res*2003; 52 (3) 275-84.
52. Caroline Geisler,1,2 Nicolas Brunel,3 and Xiao-Jing Wang Contributions of intrinsic membrane dynamics with irregular neuronal discharges // *J Neurophysiol* 94: 4344-4361, 2005., 25.
53. Casadio A., Martin K.C., Giustetto M., Zhu H., Chen M., Bartsch D., Bailey C.H., Kandel E.R. A transient, neuron-wide form of CREB-mediated long-term facilitation can be stabilized at specific synapses by local protein synthesis // *Cell.* 1999, Oct. 15; 99 (2) pp. 221-37., 25.
54. Cerminara NL, Rawson JA Evidence that climbing fibers control an intrinsic spike generator in cerebellar Purkinje cells. *J Neurosci.* 2004, May 12; 24 (19): 4510-7.
55. Chaplain R. A. Metabolic Control Of Neuronal Pacemaker Activity And The Rhythmic Organization Of Central Nervous Functions *J. exp. Biol.* (1979), 8i, 113-130.
56. Chaurasia SS, Pozdeyev N, Haque R, Visser A, Ivanova TN, Iuvone PM. Circadian clockwork machinery in neural retina: evidence for the presence of functional clock components in photoreceptor-enriched chick retinal cell cultures. *Mol Vis.* 2006, Mar 30; 12: 215-23.
57. Chen C.F., Baumgarten R.I., von, and Harth O. Metabolic aspects of the rhythmogenesis in *Aplysia* pacemaker neurons // *Pfluegers Arch. der Physiol.*, 1973, vol. 345, pp. 179-193.
58. Chen GQ, Cui C, Mayer ML, Gouaux E. . Functional characterization of a potassium-selective prokaryotic glutamate receptor. *Nature* 1999, Dec 16; 402 (6763): 817-21.
59. Chen Z, Zheng M, Friesen WO, Iwasaki T.. Multivariable harmonic balance analysis of the neuronal oscillator for leech swimming. *J Comput Neurosci.* 2008, Jul 29.
60. Chevalier M, Mironneau C, Macrez N, Quignard JF. Intracellular Ca(2+) oscillations induced by over-expressed Ca(V)3.1 T-type Ca(2+) channels in NG108-15 cells *Cell Calcium.* 2008, Jun 19. [Epub ahead of print], 2.

61. Christensen ST, Leick V, Rasmussen L, Wheatley DN. Signaling in unicellular eukaryotes. *Int Rev Cytol.* 1998; 177: 181-253., 33, 38.
62. Clark K., Hennessey T., and Nelson D. External GTP alters the motility and elicits an oscillating membrane depolarization in *Paramecium tetraurelia* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* May, 1993. Vol. 90, pp. 3782-3786, 25, 37.
63. Cuninkova L, Brown SA. Peripheral circadian oscillators: interesting mechanisms and powerful tools. *Ann N Y Acad Sci.* 2008; 1129: 358-70., 3.
64. Curras MC, Kelso SR, Boulant JA. Intracellular analysis of inherent and synaptic activity in hypothalamic thermosensitive neurones in the rat. *Physiol.* 1991; 440: 257-71, 24.
65. Del Negro Christopher a.,^{1,*} Koshiya Naohiro,^{1,2,*} Butera Robert J., Jr.,³ and c. Smith Jeffrey 1 Persistent sodium current, membrane properties and bursting behavior of pre-Boetzing complex inspiratory neurons in vitro *J Neurophysiol* 88: 2242-2250, 2002., 28.
66. Dumollard Rămi 1,2,* , Carroll John 2, Dupont Geneviève and Sardet Christian 1 Calcium wave pacemakers in eggs *Journal of Cell Science* 115, 3557-3564 © 2002.
67. Eckert R. and Naitoh Y. Passive electrical properties of paramecium and problems of ciliary coordination // *General Physiology.* 1970. V. 55. P. 467-482., 25, 28.
68. Eisenhart FJ, Cacciatore TW, Kristan WB Jr A central pattern generator underlies crawling in the medicinal leech. *J Comp Physiol [A].* 2000, Jul-Aug; 186 (7-8): 631-43., 14.
69. Fliessbach K, Trautner P, Quesada CM, Elger CE, Weber B. *Neuroimage.* 2007 Apr 15; 35 (3): 1330-7. Epub 2007, Feb 13. Cerebellar contributions to episodic memory encoding as revealed by fMRI, 4.
70. Forti L, Cesana E, Mapelli J, D'Angelo EJ *Physiol.* 2006 Aug 1; 574 (Pt 3): 711-29. Epub 2006, May 11. Ionic mechanisms of autorhythmic firing in rat cerebellar Golgi cells, 3.
71. Гарсна-Mucoz A, Barrio LC, Bucu W Membrane potential oscillations in CA1 hippocampal pyramidal neurons in vitro: intrinsic rhythms and fluctuations entrained by sinusoidal injected current. *Exp Brain Res.* 1993; 97 (2): 325-33., 16.
72. Gartside I. B. Mechanism of sustained increases of firing rate of neurones in the rat cerebral cortex after polarization: role of proteins synthesis. *Nature*, 1968, v. 220, p. 383-384., 3.
73. Geisler C., Brunel N. and Xiao-Jing Wang. Contributions of intrinsic membrane dynamics to fast network oscillations with irregular neuronal discharges // *Neurophysiol.* 2005. 94: 4344-4361., 25.
74. Geisler Caroline,^{1,2} Brunel Nicolas,³ and Wang Xiao-Jing Contributions of intrinsic membrane dynamics with irregular neuronal discharges // *Neurophysiol* 94: 4344-4361, 2005., 29.
75. Gyme-Beldarrain M, Гарсна-Mонcy JC, Rubio B, Pascual-Leone A Effect of focal cerebellar lesions on procedural learning in the serial reaction time task // *Exp Brain Res.* 1998, May; 120(1): 25-30., 25, 29.

76. Gonze D, Bernard S, Waltermann C, Kramer A, Herzog H. Spontaneous synchronization of coupled circadian oscillators // *Biophys J*. 2005, Jul; 89 (1): 120-9., 25, 33, 38.
77. Görtz HD, Kuhlmann HW, Möllenbeck M, Tiedtke A, Kusch J, Schmidt HJ, Miyake A. Intra- and intercellular communication systems in ciliates. *Naturwissenschaften*. 1999, Sep; 86 (9): 422-34., 3, 33, 38.
78. Guevorkian K, Valles JM Jr Swimming Paramecium in magnetically simulated enhanced, reduced, and inverted gravity environments *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Aug 29; 103 (35): 13051-6. Epub 2006, Aug 17., 33, 38.
79. Guilding C, Piggins HD. Challenging the omnipotence of the suprachiasmatic timekeeper: are circadian oscillators present throughout the mammalian brain? *Eur J Neurosci*. 2007, Jun; 25 (11): 3195-216., 3.
80. Habas C. *Rev Neurol (Paris)*. 2001 Dec; 157 (12): 1471-97 [The cerebellum: from motor coordination to cognitive function], 4.
81. Hahn J., Kullmann P., Horn J. P. and Levitan E.S D2 autoreceptors chronically enhance dopamine neuron pacemaker activity // *The Journal of Neuroscience*, May 10, 2006 • 26 (19): 5240-5247., 25, 29, 36.
82. Harris-Warrick RM Voltage-sensitive ion channels in rhythmic motor systems. *Curr Opin Neurobiol*. 2002, Dec; 12 (6): 646-51., 21.
83. Harvey AW, Bovell NK Spontaneous alternation behavior in Paramecium *Learn Behav*. 2006 Nov; 34 (4): 361-5, 27, 33, 38.
84. Hiroshi Yoshimura* The Potential of Caffeine for Functional Modification from Cortical Synapses to Neuron Networks in the Brain *Current Neuropharmacology*, 2005, 3, 309-316 309, 27.
85. Honma S, Nakamura W, Shirakawa T, Honma K. Diversity in the circadian periods of single neurons of the rat suprachiasmatic nucleus depends on nuclear structure and intrinsic period. *Neurosci Lett*. 2004, Apr 1; 358 (3): 173-6., 4.
86. Honma S, Shirakawa T, Nakamura W, Honma K Synaptic communication of cellular oscillations in the rat suprachiasmatic neurons.. *Neurosci Lett*. 2000, Nov 17; 294 (2): 113-6.
87. Hsieh TF, Pan JT. Extracellular single-unit studies of suprachiasmatic neurons in brain slices. Effects of serotonin, dopamine, carbachol and LHRH. *Chin J Physiol*. 1990; 33 (3): 255-68., 10.
88. Hughes RN The value of spontaneous alternation behavior (SAB) as a test of retention in pharmacological investigations of memory *Neurosci Biobehav Rev*. 2004, Sep; 28 (5): 497-505, 33, 38.
89. Ishii K., Hirose K. and Iino M. Ca²⁺ shuttling between endoplasmic reticulum and mitochondria underlying Ca²⁺ oscillations // *EMBO reports*, 2006. V. 7. N. 4., 25, 29.
90. Ito H, Kageyama H, Mutsuda M, Nakajima M, Oyama T, Kondo T. *Nat Struct Mol Biol*. 2007 Nov; 14 (11): 1084-8. Epub 2007, Oct 28 Autonomous synchronization of the circadian KaiC phosphorylation rhythm., 4.

91. Iwadate Y, Nakaoka Y Calcium regulates independently ciliary beat and cell contraction in Paramecium cells *Cell Calcium*. 2008, Jan 5 [Epub ahead of print, 33, 38, 39.
92. Iwasaki, H., and Kondo, T. (2004). Circadian timing mechanism in the prokaryotic clock system of cyanobacteria. *J. Biol. Rhythms* 19, 436-444., 3.
93. Jacklet JW, Barnes S.. Photoresponsive pacemaker neurons from the dissociated retina of Aplysia. *Neuroreport*. 1993, Dec 13; 5 (3): 209-12, 19.
94. Johnson B. R., Schneider L. R, Nadim F.,² and Harris-Warrick R. M. Dopamine modulation of phasing of activity in a rhythmic motor network: contribution of synaptic and intrinsic modulatory actions // *J Neurophysiol*. 2005. 94: 3101-3111, 30, 37.
95. Johnson B. R., Schneider L. R, Nadim F., 2 and Harris-Warrick R. M. Dopamine modulation of phasing of activity in a rhythmic motor network: contribution of synaptic and intrinsic modulatory actions // *J. Neurophysiol*. 2005. 94: 3101-3111., 1, 25.
96. Johnson CH, Golden SS, Ishiura M, Kondo T. *Mol Microbiol*. 1996, Jul; 21 (1): 5-11. Circadian clocks in prokaryotes., 5.
97. Johnson Stephen M., Wiegel Liana M., and Majewski David J. Are pacemaker properties required for respiratory rhythm generation in adult turtle brain stems in vitro? *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293: R901-R910, 2007., 28.
98. Kageyama H, Nishiwaki T, Nakajima M, Iwasaki H, Oyama T, Kondo T. *Mol Cell*. 2006 Jul 21; 23 (2): 161-71. Cyanobacterial circadian pacemaker: Kai protein complex dynamics in the KaiC phosphorylation cycle in vitro., 5.
99. Kashiwakura Y., Hee Cheol Cho, PhD; Andreas S. Barth, MD Ezana Azene, PhD; Eduardo Marbán, MD, PhD Pacemaker Channel Into the Heart Gene Transfer of a Synthetic A Novel Strategy for Biological Pacing Circulation. 2006; 114: 1682-1686.), 15.
100. Kelso SR, Perlmutter MN, Boulant JA. *Am J Physiol*. 1982, Jan; 242 (1): R77-84. Thermosensitive single-unit activity of in vitro hypothalamic slices., 5.
101. Khalsa S.B., Michel S, Block G.D. The role of extracellular sodium in the mechanism of a neuronal in vitro circadian pacemaker // *Chronobiol Int*. 1997, Jan+ADs-14 (1): p. 1., 25.
102. Klisch C, Mahr S, Meissl H Circadian activity rhythms and phase-shifting of cultured neurons of the rat suprachiasmatic nucleus. *Chronobiol Int*. 2006; 23 (1-2): 181-90, 11.
103. Kondo T. A cyanobacterial circadian clock based on the Kai oscillator. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. Kondo T. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*. 2007; 72: 47-55. A cyanobacterial circadian clock based on the Kai oscillator., 5.
104. Kononenko NI, Kuehl-Kovarik MC, Partin KM, Dudek FE Circadian difference in firing rate of isolated rat suprachiasmatic nucleus neurons *Neurosci Lett*. 2008, May 16; 436 (3): 314-6., 23.
105. Kononenko NI, Osipenko ON. Monosynaptic pathway responsible for generation of burst activity in neuron PPa1 of *Helix pomatia*. *Neurofiziologija*. 1987; 19 (1): 20-8, 15.

106. Kononenko NI, Osipenko ON. Postsynaptic mechanisms of the initiation of burst activity in neuron PPa1 of *Helix pomatia* in response to an interneuron] *Neirofiziologija*. 1987; 19 (1): 20-8, 15.
107. Kononenko NI, Storozhuk MV. Dopamine inhibits transmission between the interneuron initiating pacemaker activity in a bursting neuron and the bursting neuron on the snail *Helix pomatia*. *Comp Biochem Physiol C*. 1992, May; 102 (1): 17-22., 15.
108. Kononenko NI, Storozhuk MV. Dopamine inhibits transmission between the interneuron initiating pacemaker activity in a bursting neuron and the bursting neuron on the snail *Helix pomatia*. *Comp Biochem Physiol C*. 1992, May; 102 (1): 17-22, 5.
109. Kononenko NI. Role of the axodendritic tree in the of helix bursting neurons: generation of pacemaker activity functioning and propagation of action potentials along the axon *Neuroscience*. 2000; 96 (2): 399-406, 6.
110. Koshiya N, Smith JC. Neuronal pacemaker for breathing visualized in vitro *Nature*. 1999, Jul. 22; 400 (6742): 360-3, 28.
111. Kramer RH. Axonal contribution to subthreshold currents in *Aplysia* bursting pacemaker neurons. *Cell Mol Neurobiol*. 1986, Sep.; 6 (3): 239-53., 17.
112. Kristan WB Jr, Eisenhart FJ, Johnson LA, French KA Development of neuronal circuits and behaviors in the medicinal leech. *Brain Res Bull*. 2000, Nov. 15; 53 (5): 561-70, 13.
113. Kuhlmann H.-W. Photomovements in ciliated protozoa // *Naturwiss*. 1998. V. 85. P. 143-154, 33, 39.
114. Lakin-Thomas PL, Brody S Circadian rhythms in microorganisms: new complexities. *Annu Rev Microbiol*. 2004, 58: 489-519, 6.
115. Lam YW, Cohen LB, Wachowiak M, Zochowski MR. Odors elicit three different oscillations in the turtle olfactory bulb. *J. Neurosci*. 2000, Jan. 15; 20 (2): 749-62, 21.
116. Lee B, Almad A, Butcher GQ, Obrietan K. Protein kinase C modulates the phase-delaying effects of light in the mammalian circadian clock. *Eur J Neurosci*. 2007. Jul; 26 (2): 451-62, 19.
117. Lewis DV. Calcium-activated inward spike after-currents in bursting neurone R15 of *Aplysia*. *J Physiol*. 1988. Jan.; 395: 285-302, 17.
118. Leznik E and Llinás R. Role of gap junctions in synchronized neuronal oscillations in the inferior olive. // *J. Neurophysiol*. 2005, 94: 2447-2456., 25, 29
119. Liu C, Reppert SM GABA synchronizes clock cells within the suprachiasmatic circadian clock. *Neuron*. 2000, 25: 123-128, 12.
120. Llinas R, Sugimori M. Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell somata in mammalian cerebellar slices. *J. Physiol*. 1980, Aug.; 305: 171-95, 23.
121. Llinas R. O. and Yarom Y. Properties and distribution of ionic conductances generating electroresponsiveness of mammalian inferior olivary neurones in vitro *J. Physiol*. (1981), 315, pp. 569-584 569, 22.
122. Lundkvist G, Block G (2005) Role of neuronal membrane events in circadian rhythm generation. *Methods Enzymol* 393: 623-42., 12.

123. Lundkvist GB, Block GD. Role of neuronal membrane events in circadian rhythm generation. *Methods Enzymol.* 2005; 393: 623-42., 33, 39.
124. Maccaferri G. and McBain The hyperpolarization-activated current (I_h) and its contribution to pacemaker activity in rat CA1 hippocampal stratum oriens-alveus interneurons // *Journal of Physiology.* 1996, 497. 1, pp. 1 19-130, 26, 30, 36.
125. Maratou E., Theophilidis G. An axon pacemaker: diversity in the mechanism of generation and conduction of action potentials in snail neurons // *Neuroscience, 2000+ADs-96(1):* p. 1, 26.
126. Margolis David J.1 and Detwiler Peter B. Different Mechanisms Generate Maintained Activity in ON and OFF Retinal Ganglion Cells *The Journal of Neuroscience*, May 30, 2007 • 27 (22): 5994-6005, 21.
127. Marin-Burgin A, Eisenhart FJ, Kristan WB Jr, French KA. Embryonic electrical connections appear to pre-figure a behavioral circuit in the leech CNS. *J Comp Physiol A Neuroethol Sens Neural Behav Physiol.* 2006, Feb.; 192 (2): 123-33, 14.
128. Marin-Burgin A, WB Jr, French KA From synapses to behavior: Development of a sensory-motor circuit in the leech.. *Dev Neurobiol.* 2008, Mar. 28; 68 (6): 779-787.
129. Marshall Sarah P. and Lang Eric J. Inferior Olive Oscillations Gate Transmission of Motor Cortical Activity to the Cerebellum *The Journal of Neuroscience*, December 15, 2004 • 24 (50): 11356-11367, 20.
130. Martin KC, Barad M, Kandel ER. Local protein synthesis and its role in synapse-specific plasticity // *Curr Opin Neurobiol.* 2000, Oct.; 10 (5): 587-92, 34, 39.
131. Martin KC, Barad M, Kandel ER. Local protein synthesis and its role in synapse-specific plasticity // *Curr Opin Neurobiol.* 2000, Oct.; 10 (5): 587-92, 26, 37.
132. Maywood E, Reddy A, Wong G, O'Neill J, O'Brien J, et al. Synchronization and maintenance of timekeeping in suprachiasma suprachiasmatic circadian clock cells by neuropeptidergic signaling. *Curr Biol.* 2006. 16: 599-605, 12.
133. McClung C. Robertson Plant Circadian Rhythms *Plant Cell.* 2006. April; 18 (4): 792-803, 30.
134. McDougall A, Sardet C. Function and characteristics of repetitive calcium waves associated with meiosis.. *Curr Biol.* 1995, Mar. 1; 5 (3): 318-28, 20.
135. Medanic M, Gillette M. U. Serotonin regulates the phase of the rat suprachiasmatic circadian pacemaker in vitro only during the subjective day // *J. Physiol (Lond)*, 1992, May; 450: 629., 26.
136. Meijer J. H., Rietveld W. J. Neurophysiology of the suprachiasmatic circadian pacemaker in rodents // *Physiol. Rev.*, 1989, Jul; 69 (3): 671., 26, 29.
137. Merrow Martha, Spoelstra1 Kamiel & Till Roenneberg The circadian cycle: daily rhythms from behaviour to genes First in the *Cycles Review Series EMBO reports.* VOL 6. NO 10. 2005 930-934, 6.
138. Mieda M., Williams S. C., Richardson J. A., Tanaka K. and Yanagisawa M. The dorsomedial hypothalamic nucleus as a putative food-entrainable circadian pacemaker // *PNAS* 2006. 8, vol. 103, no. 3212150-12155, 26, 29.

139. Mimikakis JL, Nelson DL, Preston RR *Biochem J.* 47 Oscillating response to a purine nucleotide disrupted by mutation in *Paramecium tetraurelia*. 1998, Feb. 15; 330 (Pt 1): 139, 34, 39.
140. Mirmiran M, Koster-Van Hoffen GC, Bos NP. Circadian rhythm generation in the cultured suprachiasmatic nucleus. *Brain Res Bull.* 1995; 38 (3): 275-83., 10
141. Monsivais P, Clark BA, Roth A, Häusser M Determinants of action potential propagation in cerebellar Purkinje cell axons. *J. Neurosci.* 2005, Jan. 12; 25 (2): 464-72, 23.
142. Moortgat K.T., Bullock T.H., Sejnowski T..J Precision of the pacemaker nucleus in a weakly electric fish: network versus cellular influences // *J. Neurophysiol.* 2000, Feb.; 83 (2) p. 971, 26, 34, 39.
143. Moortgat KT, Bullock TH, Sejnowski TJ. Precision of the pacemaker nucleus in a weakly electric fish: network versus cellular influences. *J. Neurophysiol.* 2000, Feb; 83 (2): 971-83, 7.
144. Moortgat KT, Keller CH, Bullock TH, Sejnowski TJ. Submicrosecond pacemaker precision is behaviorally modulated: the gymnotiform electromotor pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998, Apr. 4; 95 (8): 4684-9R, 6.
145. Mori T. and Johnson C. H. Independence of circadian timing from cell division in cyanobacteria *Journal of Bacteriology*, Apr., 2001, p. 2439-2444 Vol. 183, 8, 6.
146. Nahm SS, Farnell YZ, Griffith W, Earnest DJ. Circadian regulation and function of voltage-dependent calcium channels in the suprachiasmatic nucleus. *J. Neurosci.* 2005, Oct. 5; 25 (40): 9304-8, 7.
147. Nahm SS, Farnell YZ, Griffith W, Earnest DJ. *J. Neurosci.* 2005, Oct. 5; 25 (40): 9304-8 Circadian regulation and function of voltage-dependent calcium channels in the suprachiasmatic nucleus, 7.
148. Nakamura W, Honma S, Shirakawa T, Honma K *Eur J Neurosci.* 2001, Aug; 14 (4): 666-74. Regional pacemakers composed of multiple oscillator neurons in the rat suprachiasmatic nucleus, 7.
149. Nazarenko L. V., Andreev Igor M., Lyukevich Alexander A Pisareva Tatiana V. and. Los Dmitry A Calcium release from *Synechocystis* cells induced by depolarization of the plasma membrane: MscL as an outward Ca²⁺ channel *Microbiology* (2003), 149, 1147-1153, 7.
150. Niktarash A. H. Transmission of the subthalamic nucleus oscillatory activity to the cortex: a computational approach // *Journal of Computational Neuroscience*, 2003, 15, 223-232, 29.
151. Niktarash A. H. Transmission of the subthalamic nucleus oscillatory activity to the cortex: a computational approach // *Journal of Computational Neuroscience*, 2003, 15, 223-232, 26.
152. Oami K. Membrane potentials responses controlling chemodispersal of *Paramecium caudatum* from quinine. // *J Comp Physiol A* (1996) 178: 307-316 (хемочувствительность), 34, 39.

153. Pape HC, Driesang RB Ionic mechanisms of intrinsic oscillations in neurons of the basolateral amygdaloid complex. *J Neurophysiol.* 1998, Jan.; 79 (1): 217-26, 8.
154. Parnas I, Sturmwasser Z. Prolonged excitatory and inhibitory synaptic modulation of a bursting pacemaker neuron // *J. Neurophys.* 1975, v. 37, p. 594., 26.
155. Passano L M. and McCullough C. B. The light response and the rhythmic potentials of hydra // *Zoology*: 1962, vol. 48, 1376-1382., 37.
156. Passano L M. and McCullough C. B. The light response and the rhythmic potentials of hydra // *Zoology*: 1962, vol. 48, 1376-1382., 26.
157. Pedroarena Ch. and Llinas R. Dendritic calcium conductances generate high-frequency oscillation in thalamocortical neurons // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, Vol. 94, pp. 724-728., 26, 35.
158. Pensal Fernando,2 and Ramirez Jan-Marino 1 Substance P-Mediated Modulation of Pacemaker Properties in the Mammalian Respiratory Network *The Journal of Neuroscience*, August 25, 2004 • 24 (34): 7549-7556 • 7549, 28.
159. Perkel DH, Schulman JH, Bullock TH, Moore GP, Segundo JP. Pacemaker neurons: effects of regularly spaced synaptic input. *Science.* 1964, Jul. 3; 145: 61-3, 8.
160. Pittendrigh C. S. Circadian systems, i. the driving oscillation and its assay in *Drosophila pseudoobscura** *PROC. N. A. S.* 1967. VOL. 58, Physiology: 1762-8.
161. Pittendrigh, C.S. (1993). Temporal organization: reflections of a Darwinian clock-watcher. *Annu. Rev. Physiol.* 55, 16-54, 8.
162. Pitts GR, Ohta H, McMahon DG. *Brain Res.* Daily rhythmicity of large-conductance Ca²⁺-activated K⁺ currents in suprachiasmatic nucleus neurons. *2006 Feb 3;1071(1):54-62.* Epub. 2006, Jan. 17, 10.
163. Precht J.C., Bullock T. H., and Kleinfeld D. Direct evidence for local oscillatory current sources and intracortical phase gradients in turtle visual cortex *PNAS* 18, 2000, vol. 97, no. 2, 877-882, 20.
164. Preston RR, Usherwood PN. L-glutamate-induced membrane hyperpolarization and behavioural responses in *Paramecium tetraurelia*. *J. Comp Physiol [A].* 1988, Nov.; 164 (1): 75-82., 34, 39.
165. Preston RR, Van Houten JL Localization of the chemoreceptive properties of the surface membrane of *Paramecium tetraurelia*. *J. Comp Physiol [A].* 1987, Apr.; 160 (4): 537-41, 34, 39.
166. Prosser R.A., McArthur A.J., Gillette M.U. cGMP induces phase shifts of a mammalian circadian pacemaker at night, in antiphase to cAMP effects // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1989, Sep.; 86 (17): 6812., 26.
167. Rabbah P, Nadim F. Distinct synaptic dynamics of heterogeneous pacemaker neurons in an oscillatory network // *J. Neurophysiol.* 2007, Jan. 3; 26, 29.
168. Rabbah P, Nadim F. Distinct synaptic dynamics of heterogeneous pacemaker neurons in an oscillatory network *J. Neurophysiol.* 2007, Jan. 3; [Epub ahead of print, 34, 39.
169. Ramirez J. M., Tryba A. K., Pena F. Pacemaker neurons and neuronal networks: an integrative view // *Curr Opin Neurobiol.* 2004, Dec.; 14 (6): 665-74, 26.

170. Ramirez JM, Garcia Iii A. Medullary Pacemaker Neurons are Essential for Both Eupnea and Gasping in Mammals- // *The Last Word J Appl Physiol*. 2007, Apr. 26, 26, 29.
171. Roenneberg Till 1 and Merrow Martha 2 *Circadian Clocks: Translation Lost Current Biology*. Vol 15, No 12, PP., 8.
172. Rose T, Gras H, Hörner M. Activity-dependent suppression of spontaneous spike generation in the Retzius neurons of the leech *Hirudo medicinalis* L. *Invert Neurosci*. 2006, Dec; 6 (4): 169-76. Epub. 2006, Oct. 31, 14.
173. Ruta V, Jiang Y, Lee A, Chen J, MacKinnon R. Functional analysis of an archaeobacterial voltage-dependent K⁺ channel. *Nature*. 2003, Mar. 13; 422 (6928): 180.
174. Sardet C, Roegiers F, Dumollard R, Rouviere C, McDougall A. Calcium waves and oscillations in eggs.. *Biophys Chem*. 1998, May. 5; 72 (1-2): 131-40., 20.
175. Scott IM, Boulant JA. *Brain Res*. 1984, Jul. 23; 306 (1-2): 157-63. Dopamine effects on thermosensitive neurons in hypothalamic tissue slices. 2007; 72: 47-55., 9.
176. Shibata S, Moore RY Electrical and metabolic activity of suprachiasmatic nucleus neurons in hamster hypothalamic slices. *Brain Res*. 1988, Jan. 12; 438 (1-2): 374-8.
177. Simon S. M. and Llinas R.R. Compartmentalization of the submembrane calcium activity during calcium influx and its significance in transmitter release // *Biophysical journal*, 1985. V. 48 p. 485-497.
178. Soto-Trevico C, Rabbah P, Marder E, Nadim F Computational model of electrically coupled, intrinsically distinct pacemaker neurons *J Neurophysiol*. 2005, Jul.; 94 (1): 590-604. Epub. 2005, Feb. 23., 34, 40.
179. Sotty F., Danik M., Manseau F., Laplante F., Quirion R. and Williams S. Distinct electrophysiological properties of glutamatergic, cholinergic and GABAergic rat septohippocampal neurons: novel implications for hippocampal rhythmicity *J. Physiol* (2003), 551.3, pp. 927-943, 14.
180. Sugino K, Tominaga T., Allen R.D. and Naitoh Y. Electrical properties and fusion dynamics of in vitro membrane vesicles derived from separate parts of the contractile vacuole complex of *Paramecium multimicronucleatum* // *The Journal of Experimental Biology*. 208, 3957-3969, 34, 40.
181. Sujino M, Masumoto KH, Yamaguchi S, van der Horst GT, Okamura H, Inouye ST. Suprachiasmatic nucleus grafts restore circadian behavioral rhythms of genetically arrhythmic mice. // *Curr Biol*. 2003, Apr. 15; 13 (8): 664-8, 26.
182. Taddei-Ferretti C, Cordella L. Modulation of *Hydra attenuata* rhythmic activity: phase response curve // *J Exp Biol*. 1976, Dec.; 65 (3): 737-51., 26.
183. Thompson RF Are memory traces localized or distributed? *Neuropsychologia*. 1991; 29 (6): 571-82, 26.
184. Toller GL, Nagy E, Horvath RA, Klausz B, Rekasi Z Circadian expression of Bmal1 and serotonin-N-acetyltransferase mRNAs in chicken retina cells and pinealocytes in vivo and in vitro. *J Mol Neurosci*. 2006; 28 (2): 143-50., 21.

185. Tomida T, Hirose K, Takizawa A, Shibasaki F, Iino M (2003) NFAT functions as a working memory of Ca²⁺ signals in decoding Ca²⁺ oscillation // *EMBO. J.* 22: 3825-3832, 26, 29.
186. Urbano FJ, Simpson JI, Llinás RR. Somatomotor and oculomotor inferior olivary neurons have distinct electrophysiological phenotypes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006, Oct 31; 103 (44): 16550-5. Epub. 2006, Oct. 18, 22.
187. Van Houten J. Chemosensory transduction in *Paramecium* // *Europ. J. Protostiol.* 1998. V. 34. P. 301-307, 2, 35, 40.
188. Vansteensel MJ, Michel S, Meijer JH. Organization of cell and tissue circadian.
189. Varga V, Hangya B, Kránitz K, Ludányi A, Zemankovics R, Katona I, Shigemoto R, Freund TF, Borhegyi Z The presence of pacemaker HCN channels identifies theta rhythmic GABAergic neurons in the medial septum. *J. Physiol.* 2008, Aug 15; 586 (16): 3893-915. Epub. 2008, Jun. 19, 16.
190. Victor A. Maltsev, PhD and Edward G. Lakatta, MD Normal heart rhythm is initiated and regulated by an intracellular Calcium clock within pacemaker cells *Heart Lung Circ.* 2007. October; 16 (5): 335-348., 22.
191. Wassenberg JJ, Clark KD, Nelson DL. Effect of SERCA pump inhibitors on chemoresponses in *Paramecium* // *J. Eukaryot Microbiol.* 1997, Nov.-Dec.; 44 (6): 574-81, 27.
192. Wassenberg JJ, Clark KD, Nelson DL. Effect of SERCA pump inhibitors on chemoresponses in *Paramecium* // *J. Eukaryot Microbiol.* 1997, Nov.-Dec.; 44 (6): 574-81. 47, 28.
193. Watanabe A, Shibata S, Watanabe S. Circadian rhythm of spontaneous neuronal activity in the suprachiasmatic nucleus of old hamster in vitro. *Brain Res.* 1995, Oct. 16; 695 (2): 237-9, 10.
194. Welsh DK, Logothetis DE, Meister M, Reppert SM (1995) Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms. *Neuron.* 14: 697-706, 9.
195. Wittner L, Miles R Factors defining a pacemaker region for synchrony in the hippocampus. *J. Physiol.* 2007, Nov. 1; 584 (Pt 3): 867-83. Epub. 2007, Sep. 6, 16.
196. Wong R K and M Stewart Different firing patterns generated in dendrites and somata of CA1 pyramidal neurones in guinea-pig hippocampus. *J. Physiol.* 1992; 457; 675-687.
197. Woolum J. C. and Strumwasser F. The differential effects of ionizing radiation on the circadian oscillator and other functions in the eye of *Aplysia* (x-rays/molluscan eye) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1980, Sep.; 77 (9): 5542-6.
198. Wright CL, Burgoon PW, Bishop GA, Boulant JA. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2008, May; 294 (5): R1704-15. Epub. 2008, Mar. 5. Cyclic GMP alters the firing rate and thermosensitivity of hypothalamic neurons., 9.
199. Yamaguchi S, Isejima H, Matsuo T, Okura R, Yagita K. Synchronization of cellular clocks in the suprachiasmatic nucleus. *Science.* 2003, 302: 1408-1412, 12.

200. Yoshimura Hiroshi The Potential of Caffeine for Functional Modification from Cortical Synapses to Neuron Networks in the Brain *Current Neuropharmacology*, 2005, 3, 309-316, 17.
201. Young MW, Kay SA. Time zones: a comparative genetics of circadian clocks *Nat Rev Genet.* 2001, Sep.; 2 (9): 702-15, 29.
202. Young, M. W., and Kay, S.A. (2001). Time zones: a comparative genetics of circadian clocks. *Nat. Rev. Genet.* 2, 702-715., 9.
203. Zhao Y, Boulant JA. Temperature effects on neuronal membrane potentials and inward currents in rat hypothalamic tissue slices. *J Physiol.* 2005, Apr. 1; 564 (Pt 1): 245-57., 24.
204. Zhi-Gen Jiang*, YuQin Yang*, Zhao-Ping Liut and Charles N. Al Membrane properties and synaptic inputs of suprachiasmatic nucleus neurons in rat brain slices *Journal of Physiology* (1997), 499.1, pp. 141-159, 9.
205. Zimmerman N. and Menaker M. The pineal gland: A pacemaker within the circadian system of the house sparrow *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 76, No. 2, pp. 999-1003, February 1979.

Глава 14. ГЛИЯ: МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ФУНКЦИИ

Клетки глии распределены по всей нервной системе вокруг нервных клеток и превышают их по численности в 9–10 раз. С момента открытия глии в конце XIX в. и до середины XX века ученые не обращали никакого внимания на эти клетки, рассматривая их как вспомогательные элементы (клетки-спутники) нервной ткани. И только в последние 10–15 лет стало ясным, что глиальные клетки играют в процессах памяти, обучения и мышления не менее важную роль, чем нейроны.

Глию делят на «микроглию», «макроглию» и «радиальную глию». Макроглия представлена в ЦНС астроцитами и олигодендроцитами, а в периферической нервной системе — Шванновскими клетками. Еще один тип клеток макроглии — радиальная глиа — играет крайне важную роль в формировании нервной ткани на разных стадиях эмбриогенеза и прижизненного нейрогенеза. Микроглия представлена особой популяцией клеток-фагоцитов нервной системы.

Глиальные клетки одного типа связаны между собой щелевыми синапсами и образуют единую электрически однородную сеть («синцитий»).

Макроглия играет важную роль в поддержании гомеостаза экстраклеточной среды. В этой связи мембраны глиальных клеток так же, как и мембраны нейронов, содержат ионные каналы, рецепторы нейромедиаторов, ионные насосы и транспортеры аминокислот. В мембранах астроцитов и Шванновских клеток имеются калиевые и хлорные ионные каналы, а также потенциал-зависимые натриевые и кальциевые каналы. Мембранный потенциал клеток макроглии полностью определяется потенциалом электрохимического равновесия для ионов калия. Глиальные клетки включены в процесс перераспределения ионов калия во внеклеточной среде, образуя в нервной системе «пространственный буфер экстраклеточной концентрации калия». В мембранах клеток глии обнаружены ионные помпы для трансмембранного транспорта ионов натрия и калия, бикарбоната и протонов. В мембранах астроцитов, олигодендроцитов и Шванновских клеток широко представлены рецепторы и транспортеры для

таких нейромедиаторов, как глутамат, ГАМК, глицин, ацетилхолин и норадреналин.

Функции глии не ограничиваются, как полагали до недавнего времени, снабжением нейронов питательными веществами (лактат, кислород, глюкоза). Олигодендроциты и Шванновские клетки осуществляют миелинизацию и ремиелинизацию (при повреждениях) аксонов нейронов в ЦНС и периферической нервной системе соответственно. Глия является важной составной частью гематоэнцефалического барьера. Глиальные клетки включены во все процессы мозга, требующие пластических перестроек нейронных сетей: эмбриогенез и прижизненный нейрогенез, формирование следов памяти, регенерация поврежденной нервной ткани.

14.1. Морфология глии

В 1846 г. немецкий врач и ученый Р. Вирхов¹ ввел термин «глиальные клетки», или «глия» (от англ. «glue» — клей), для обозначения открытой им своеобразной разновидности соединительной ткани, расположенной между нервными клетками и как бы соединяющей («склеивающей») их между собой. В 1883 г. знаменитый итальянский гистолог К.Гольджи обратил внимание на то, что глия отличается от обычной соединительной ткани морфологически и химически и имеет иное эмбриональное происхождение. По этой причине для обозначения этой специфической соединительной ткани он предложил широко используемый в настоящее время термин «нейроглия» (*синонимы*: клетки-сателлиты, клетки-спутники). Клетки глии способны делиться и размножаться во взрослом организме, что является наиболее частым источником образования опухолей мозга и «глиальных рубцов» в процессе регенерации пораженной нервной ткани.

Современные исследования демонстрируют принципиальное сходство в строении и свойствах глиальных клеток беспозвоночных (пиявка) и позвоночных (земноводные, млекопитающие) животных (Николлс с соавт., 2003).

¹ Рудольф Вирхов (1821-1902) (нем. *Rudolf Ludwig Karl Virchow*) — немецкий ученый и политический деятель, врач, патологоанатом, гистолог, физиолог, активно разрабатывавший основы клеточной теории в биологии и клеточной патологии в медицине.

14.1.1. Типы глиальных клеток и их формирование в эмбриогенезе

Общепринято делить «глию» на «микроглию» и «макроглию», но некоторые исследователи относят к глии и «эпендимные клетки». Глиальных клеток всех типов примерно в 9-10 раз больше, чем нейронов. Это составляет около половины объема, занимаемого всей нервной системой (рис. 14.1; Филдз, 2004).



Рис. 14.1. Глиальных клеток разного типа (на рисунке выделены красным) в нервной системе примерно в 9-10 раз больше, чем нейронов (выделены синим) (по: Филдз, 2004).

Различные морфологические типы глиальных клеток были идентифицированы с помощью методов световой флуоресцентной микроскопии и иммуногистохимии.

Макроглия включает «астроциты», «олигодендроциты», «Шванновские клетки» и «клетки радиальной глии» (рис. 14.2-14.5).

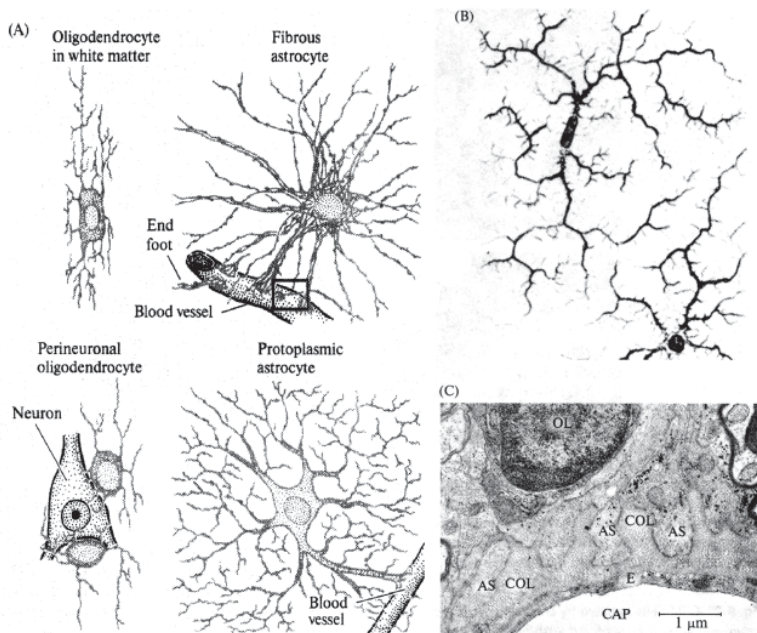


Рис. 14.2. Типы нейроглиальных клеток в мозге млекопитающих (по: Николлс с соавт., 2003). (А) Олигодендроциты (oligodendrocytes), расположенные в белом веществе (in white matter) и вблизи тел нейронов (perineuronal); фиброзные (fibrous) и протоплазматические (protoplasmatic) астроциты. (В) Микроглиальные клетки. (С) Микрофотография рядом расположенных в оптическом тракте крысы кровеносного капилляра, фиброзного астроцита (AS) и олигодендроцита, сделанная с помощью электронного микроскопа. *Обозначения:* CAP — просвет капилляра, E — эндотелиальные клетки внутренней стенки сосуда; COL — коллагеновые волокна, заполняющие пространство между между отростками AS и E; OL — часть ядра олигодендроцита.

Астроциты контактируют, с одной стороны, с кровеносными капиллярами и, с другой, — с нейронами. Они делятся на два класса: фиброзные астроциты и протоплазматические астроциты (рис. 14.2, А). «Фиброзные астроциты» содержат большое количество филаментов и расположены преимущественно среди миелинизированных волокон. «Протоплазматические астроциты», содержащие меньше фиброзного материала, преобладают в области сомы, дендритов и синапсов нейронов.

Олигодендроциты (клетки овальной формы) сконцентрированы в центральной нервной системе (ЦНС), где они формируют миелиновую оболочку вокруг крупных аксонов (рис. 14.3-14.4). В нервах и ганглиях периферической нервной системы аналогами олигодендроцитов являются *Шванновские клетки*, открытые немецким физиологом и гистологом Т. Шванном в 1838 г. (рис. 14.5). Эти клетки формируют миелин вокруг крупных аксонов с высокой скоростью проведения возбуждения. Олигодендроциты и Шванновские клетки имеют разное происхождение в эмбриогенезе: первые образуются из клеток-предшественниц, выстилающих мозговую трубку (эпендимы), а вторые — из нервного гребня. *Клетки радиальной глии* с помощью своих отростков, натянутых, как «струны», образуют своеобразные пути (тракты), вдоль которых развивающиеся в процессе нейрогенеза нервные клетки мигрируют к местам своего назначения (рис. 14.18). Считается, что в ЦНС взрослых животных аналогами радиальной глии являются клетки Бергмана в мозжечке и Мюллеровские клетки в сетчатке глаза.

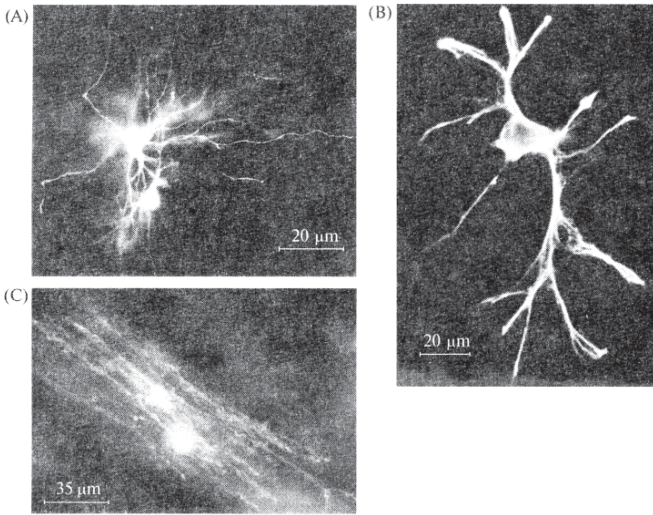


Рис. 14.3. Клетки глии оптического нерва крысы, прокрашенные с помощью методов флуоресцентной микроскопии и иммунной гистохимии (по: Butt, Ransom, 1993 (A, C); Newman, 1985 (B)). (A) Флуоресцентный краситель, введенный в астроцит оптического нерва, прокрасил также соседний астроцит, куда проник через щелевые (электрические) синапсы между глияльными клетками. (B) Фиброзный астроцит, окрашенный антителами к глияльному протеину GFAP. (C) Флуоресцирующий олигодендроцит, заполненный Procion Yellow.

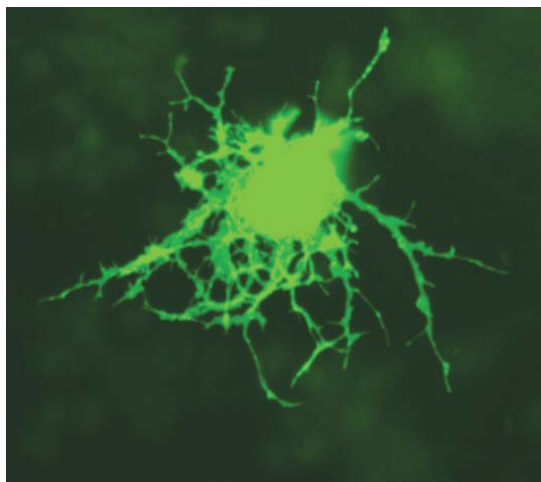


Рис. 14.4. Олигодендроцит мыши, заполненный зеленым флуоресцирующим протеином GFP (Green Fluorescent Protein) (по: Broeke, 2008).

Микроглия. Микроглиальная ткань образована особой популяцией клеток-фагоцитов нервной системы. По строению и свойствам клетки микроглии напоминают макрофаги крови, от которых они, возможно, и происходят (BROWN, PERRY, 1998).

Эпендимальная ткань выстилает внутреннюю поверхность мозга (желудочков) и классифицируется как глиальная, так как является источником глиальных клеток в процессах эмбриогенеза и прижизненного нейрогенеза.

14.1.2. Синцитиальные объединения глиальных клеток

Мембраны соседних глиальных клеток плотно прилегают друг к другу и отделены узким экстраклеточным пространством в 2-3 нм, пронизанным тонкими протоплазматическими выростами, которые соединяют смежные локусы мембран двух клеток (рис. 14.6).

Протоплазматические «мостики», образованные скоплениями белковых молекул (коннексонов), позволяют осуществлять обмен ионами и мелкими молекулами между цитоплазмами смежных клеток. Такие плотные контакты называются «щелевыми соединениями (gap junctions)», или «электрическими (эфаптическими) синапсами». Они обладают низким сопротивлением и часто встречаются в нервной и других тканях организма (сетчатка глаза, эпителиальные клетки, гладкомышечные клетки сердечной мышцы). Таким образом, глиальные клетки одного

типа связаны между собой щелевыми синапсами и образуют единую электрически однородную сеть, так называемый «синцитий». Синцитиальные объединения глиальных клеток играют важную роль в обеспечении процессов межнейронных взаимодействий.

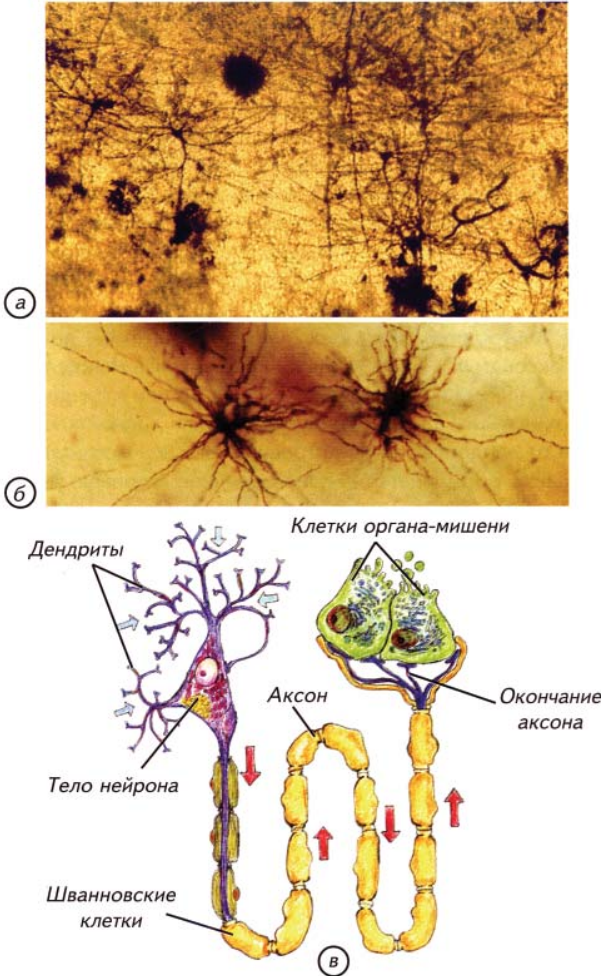


Рис. 14.5. Глиальные клетки и нейроны человека, окрашенные по методу Гольджи (импрегнация серебром) (по: Савельев, 2005). (а) Нейроны коры головного мозга человека. (б) Глиальные клетки из мозга человека. (в) Нейроны и глия (Шванновские клетки) периферической нервной системы.

Мембраны клеток глиальных и нейронов отделены друг от друга небольшим (20 нм) экстраклеточным пространством, заполненным жидкостью (рис. 14.6).

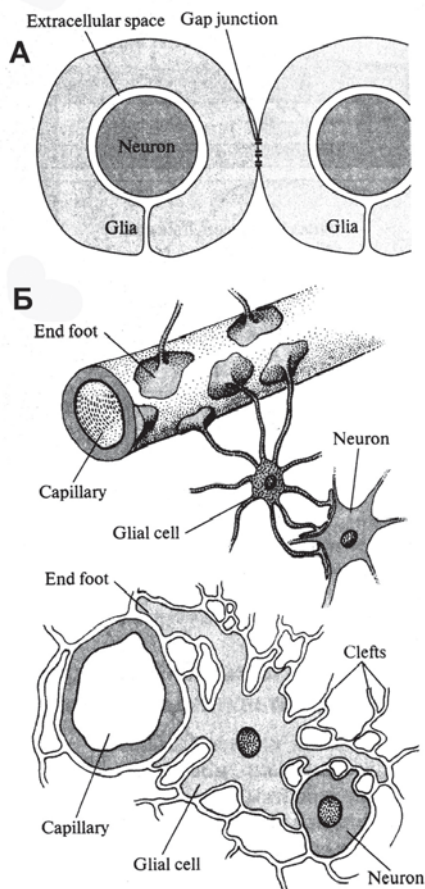


Рис. 14.6. Схема нейронально-глиальных и глиально-глиальных взаимодействий (по: Николлс с соавт., 2003). (А) Клетки глии и нейроны разделены щелью (extracellular space), между ними нет синаптических контактов. Глиальные клетки соединены между собой электрическими синапсами (gap junction). (В) Связи между нейронами, глией и кровеносной системой по данным световой (вверху) и электронной (внизу) микроскопии. *Обозначения:* end foot — концевая ножка (астроцита); capillary — кровеносный сосуд (капилляр); clefts — (межклеточные) щели, заполненные экстраклеточной жидкостью.

14.2. Физиология глии

14.2.1. Мембраны клеток макроглии

Макроглия играет важную роль в поддержании гомеостаза экстраклеточной среды, в частности, ионного баланса и распределения концентраций нейромедиаторов. В этой связи мембраны глиальных клеток так же, как и мембраны нейронов, содержат ионные каналы, рецепторы нейромедиаторов, ионные насосы и транспортеры аминокислот.

14.2.1.1. Ионные каналы и помпы

В мембранах астроцитов и Шванновских клеток имеются калиевые и хлорные *ионные каналы*, а также потенциал-зависимые натриевые и кальциевые каналы. При этом доминирует калиевая проводимость, отношение которой к натриевой проводимости в Мюллеровских клетках составляет 100:1. В мембранах клеток глии обнаружены *ионные помпы* для трансмембранного транспорта ионов натрия и калия, бикарбоната и протонов (Astion et al., 1991).

14.2.1.2. Рецепторы к нейромедиаторам: прямой и обратный транспорт

В мембранах астроцитов, олигодендроцитов и Шванновских клеток широко представлены рецепторы и транспортеры для таких нейромедиаторов, как глутамат, ГАМК, глицин, ацетилхолин и норадреналин (Henn, Hamberger, 1971; Porter et al., 1998; Szatkowski et al., 1990).

Показано, что захват нейромедиаторов клетками глии играет ключевую роль в обеспечении нормального функционирования нейронных сетей. Так, натрий-зависимое поглощение астроцитами избыточного экстраклеточного глутамата в области синапсов приводит к деполяризации клеток глии и предотвращает чрезмерную активацию NMDA-рецепторов, которая, в противном случае, приводит к резкому повышению внутриклеточной концентрации кальция и, как следствие, смерти нейрона (Matsui et al., 1999). При очень высоких концентрациях внеклеточного глутамата или калия, возникающих, например, при гибели нейронов, деполяризующиеся клетки глии начинают выделять глутамат в экстраклеточное пространство. Такой переход от «спасительного» для нейронов поглощения избыточного глутамата к его «губительному» выделению происходит в результате реверсии электрогенно функционирующего механизма закачки медиатора (Takahashi et al., 1997). Активация «обратного транспорта» глутамата может приводить — по петле «положительной обратной связи» — к дальнейшему поврежде-

нию мозга. У трансгенных мышей при отсутствии в глиальных клетках глутаматного транспортера GLT-1 развивается эпилепсия и повышается чувствительность к конвульсантам (Porter, Mccarthy, 1998).

14.2.1.3. «Кальциевые волны». Молекулярные механизмы глиально-глиального и глиально-нейронального взаимодействий

С поглощением и одновременно с регуляцией высвобождения глутамата клетками глии связывают феномен так называемых «кальциевых волн», регистрируемых с помощью специальных кальций-чувствительных флуоресцентных зондов в глиальных сетях. По данным Николлс с соавт. (2003), кальциевые осцилляции (волны) порождаются выходом кальция из внутриклеточных депо и распространяются затем по глиальному синцитию. Показано, что эти волны могут приводить к выделению глутамата из клеток глии и, как следствие, влиять на паттерны нейрональной активности (Newman, Zahs, 1998). С другой стороны, в работах Stevens et al. (2002) обнаружено, что увеличение внутриклеточного кальция в астроцитах происходит и при добавлении в раствор культуры ткани нейромедиатора глутамата. По данным Д. Филдза (2004), увеличение внутриклеточной концентрации кальция в клетках глии, сопровождающее с некоторой задержкой во времени реакции рядом расположенных нейронов, является результатом увеличения входящего кальциевого тока, а не выброса кальция из внутриклеточных депо (рис. 14.7 А, Б).

В работах Ben Kater (1996; цит. по: Филдз, 2004) показано, что возникающие при поглощении глутамата «кальциевые волны» могут распространяться по глиальной сети *in vitro* (в культуре ткани) при отсутствии щелевых синапсов между глиальными клетками. Это свидетельствовало о том, что коммуникация глиальных клеток, опосредуемая кальцием и проявляющаяся в виде кальциевых волн, осуществляется не путем прямого перехода ионов кальция из клетки в клетку через электрические синапсы, а с помощью внеклеточного механизма. Этот механизм, описанный в работах P.Guthrie (1999; цит. по: Филдз, 2004) и Филдза (2004), включает следующий каскад молекулярных реакций (рис. 14.8).

Аксоны возбужденных нейронов выделяют в окружающую среду молекулы АТФ. АТФ вызывает открытие кальциевых каналов в мембране прилегающей к нейрону глиальной клетки (астроцита, олигодендроцита или Шванновской клетки) и вход ионов кальция внутрь клетки. При поглощении кальция глиальная клетка выделяет в экстраклеточную среду молекулы АТФ. АТФ вызывает открытие кальциевых каналов в мембране соседней глиальной клетки, и цикл «вход ионов кальция — выделение АТФ» — повторяется. В результате такого каскада циклических реакций

«кальциевая волна» распространяется по глиальному синцитию (рис. 14.7, Б). Добавление в культуру ткани, содержащую Шванновские клетки и сенсорные клетки из дорзально-корешкового ганглия мыши, фермента апиразы, разрушающего АТФ, приводило ожидаемым образом к блокаде «кальциевых волн» в глии (Филдз, 2004). Имеются данные о том, что кальциевые волны в глии сетчатки (Мюллеровских клетках) влияют на частоту разрядов ганглиозных клеток (Филдз, 2004).

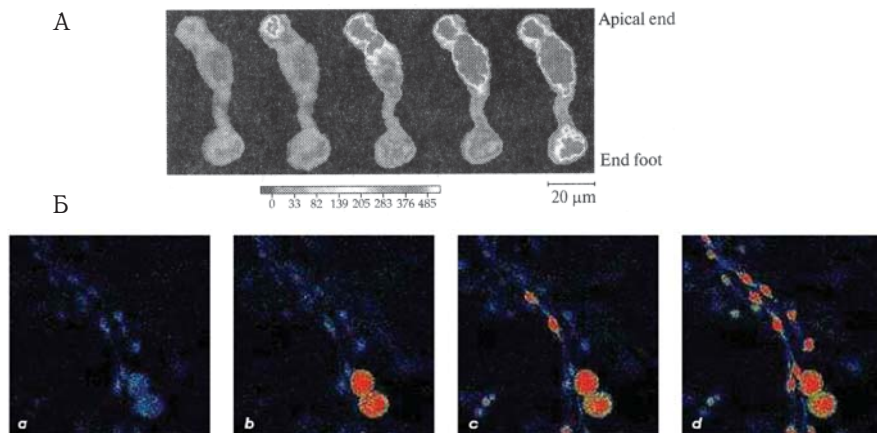


Рис. 14.7. «Кальциевые волны», генерируемые внутриклеточно в отдельных клетках глии (А) и затем распространяющиеся по глиальному синцитию (Б). (А) Кальциевые волны в изолированных Мюллеровских клетках сетчатки саламандры, регистрируемые внутриклеточно с помощью кальций-чувствительного красителя fura-2 с интервалом 7 с. в ответ на добавление рианодина. Видно, что «кальциевая волна» зарождается в апикальных частях клетки (apical end) и постепенно распространяется в сторону концевой ножки (end foot) (по: Николлс с соавт., 2003). (Б) Кадры фильма, полученные с помощью лазерной конфокальной микроскопии и демонстрирующие распространение «кальциевых волн» по «электрическому синцитию» глиальных клеток (по: Филдз, 2004). Две крупные сенсорные клетки и мелкие Шванновские клетки заполнялись кальций-чувствительным флуоресцирующим красителем и помещались в питательный раствор с высоким содержанием кальция (а). Электрическая стимуляция нейронов вызывала вначале закономерным образом флуоресценцию активированных сенсорных клеток (выделено *красным цветом*) (б). Но затем (через 12 с.) начинали «светиться» и Шванновские клетки (с), что указывало на повышение концентрации кальция в глиальных клетках, вызванное активацией нейронов. При этом это свечение распространялось в виде «кальциевой волны» все дальше от места стимуляции нейронов, охватывая всю окружающую нейроны сеть мелких Шванновских клеток (d; кадр снят через 18 с. после начала стимуляции).

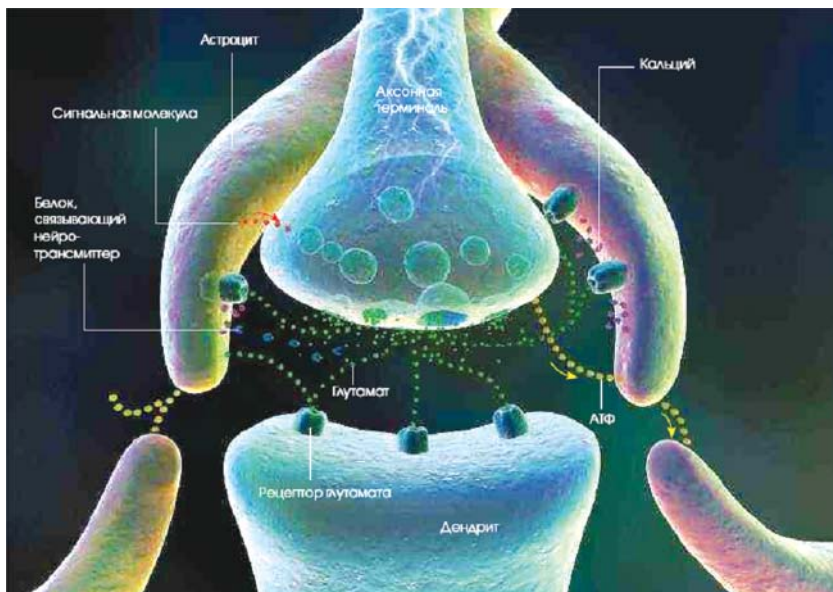


Рис. 14.8. Способы участия астроцитов в регуляции (модификации) передачи сигнала в глутамат-эргических синапсах (по: Филдз, 2004). Активированная пресинаптическая терминаль выделяет в синаптическую щель нейротрансмиттер глутамат (обозначен *зеленым цветом*) и АТФ (*желтый цвет*). Глутамат и АТФ вызывают поглощение кальция (*фиолетовый*) астроцитами, что, в свою очередь, вызывает интенсификацию глиально-глиального взаимодействия за счет высвобождения собственного АТФ. Астроциты могут повлиять на эффективность синаптической передачи несколькими способами: (1) они могут усилить передачу путем выделения собственного глутамата; (2) они могут ослабить передачу путем поглощения нейротрансмиттера или выброса связывающих его белков (*синий*); (3) они могут с помощью собственных сигнальных молекул (*красный*) увеличить или же уменьшить выброс нейромедиатора при последующих активациях синапса. Не исключено, что аналогичные процессы нейронально-глиальных взаимодействий наблюдаются и в периферической нервной системе, где синапсы окружены не астроцитами, а Шванновскими клетками.

Взаимодействие между нейронами и глией не ограничивается циклом АТФ-кальций-АТФ. В исследованиях Филдза (2004) обнаружен факт активации входящим в глиальную клетку кальцием специфических сигнальных молекул, достигающих ядра и запускающих там считывание информации с определенных генов.

14.2.2. Потенциал покоя. Глиальная клетка как «калий-чувствительный электрод»

Если значения потенциала покоя в нейронах не превышают -75 мВ, то потенциал покоя у клеток глии может достигать -90 мВ. Этот потенциал практически полностью определяется потенциалом электрохимического равновесия для ионов калия и довольно точно рассчитывается по уравнению Нернста для полупроницаемых мембран, разделяющих растворы с разной концентрацией ионов калия (рис. 14.9).

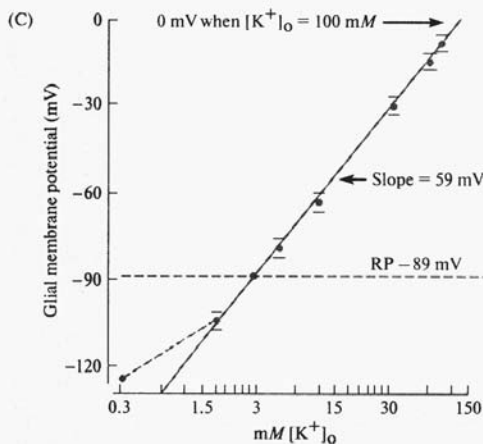
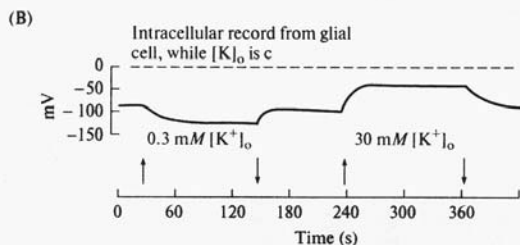
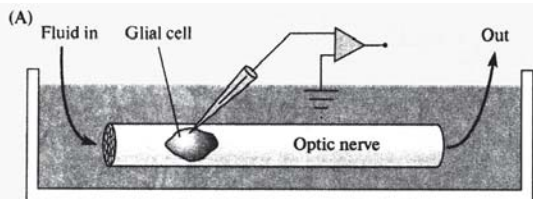


Рис. 14.9. Глиальная клетка как «калий-чувствительный электрод» (по: Kuffler et. al., 1966). (A) Схема регистрации активности глиальной клетки (glial cell) оптического нерва в протоке питательного раствора с меняющейся концентрацией ионов калия. (B) Уменьшение концентрации калия в 10 раз (с 3 мМ до 0.3 мМ) вызывает гиперполяризацию, а увеличение концентрации в 10 раз (до 30 мМ) — деполяризацию клетки. (C) Экспериментально полученная зависимость мембранного потенциала глиальной клетки от внеклеточной концентрации калия отклоняется от теоретической (сплошная линия), рассчитываемой по уравнению Нернста, только в области очень низких концентраций калия (пунктир). Обозначения: RP — потенциал покоя (resting potential), mV — значения мембранного потенциала глиальной клетки.

Калиевые каналы распределены по мембране астроцитов и Мюллеровских клеток неравномерно с максимумом плотности в области концевой отростка (ножки) и минимумом — в области сомы (рис. 14.10).

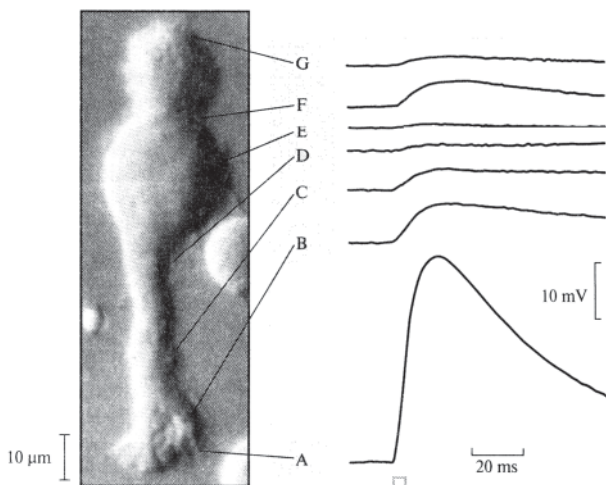


Рис. 14.10. Внутриклеточно регистрируемые реакции (деполяризация) разных участков изолированной Мюллеровской клетки сетчатки саламандры в ответ на локальное повышение концентрации внеклеточного калия (по: Newman, 1985). Видно, что максимальной чувствительностью к изменениям калия обладает концевая ножка, что объясняется более высокой концентрацией здесь калиевых каналов. *Обозначения:* А — концевая ножка, G — дистальная часть клетки; В, С, D, E, F — промежуточные между А и G части клетки для внутриклеточной регистрации реакций (указаны справа) на увеличение внеклеточного калия.

Указанные особенности послужили основанием для уподобления клетки макроглии калий-чувствительному электроду (Newman, 1985, 1988).

14.3. Функции глии

До недавнего времени считалось, что функции нейроглии — структурная поддержка нервной ткани, питание нейронов, электрическая изоляция их отростков и др. — принципиально ясны и в своей основе хорошо исследованы. Однако данные современной нейронауки свидетельствуют о том, что клетки-сателлиты не являются просто вспомогательными элементами нервной ткани. Начиная с середины 90-х гг.

XX века и по настоящее время растет число работ, свидетельствующих об активном участии глии в информационных процессах мозга. В частности, уже не вызывает сомнения факт включенности глиальных клеток во все процессы мозга, требующие пластических перестроек нейронных сетей (эмбриогенез и прижизненный нейрогенез, формирование следов памяти, регенерация поврежденной нервной ткани). По мнению Д.Филдза (D. Fields), главного редактора журнала «Биология нейронально-глиальных взаимодействий» («J. Neuron Glia Biology»), «клетки глии, на которые ученые полвека не обращали никакого внимания, играют в процессах памяти, обучения и мышления не менее важную роль, чем нейроны» (Филдз, 2004: с. 23; Fields, 2006).

14.3.1. «Санитарные» функции глии: участие в процессах фагоцитоза и регенерации нервной ткани

Совместно с макрофагами крови клетки микроглии активно участвуют в удалении продуктов распада поврежденных клеток, а совместно с клетками макроглии — в рубцевании и регенерации нервной ткани. Процесс фагоцитоза протекает в два этапа (Smith et al., 1987; McGlade-McCulloh et al., 1989). На первом этапе в очаге поражения активируются резидентные клетки микроглии, которые делятся и совместно с макрофагами крови утилизируют продукты распада. На втором этапе в очаг поражения мигрируют микроглиальные клетки из соседних областей, где до момента повреждения они распределены равномерно среди ганглиев и пучков аксонов. Участие микроглии в рубцевании и регенерации нервной ткани реализуется путем выделения микроглиальными клетками молекул экстраклеточного матрикса — ламинина, который способствует росту отростков нейронов (Ekblom, Timpl, 1996).

Активное участие в регенерации поврежденных аксонов периферических нервов принимают Шванновские клетки (ШК). Наиболее тщательно участие ШК в управлении ростом периферических нервов исследовано на модели концевой пластинки — синапса между окончанием двигательного нерва и скелетной мышцей (Son, Thompson, 1995 a, b) (рис. 14.11).

После утилизации продуктов распада клетками микроглии ШК пролиферируют параллельно ходу регенерирующего волокна, образуя так называемые «ленты Бюгнера». Регенерирующий аксон растет в дистальном от тела нейрона направлении вдоль этих лент, которые трансформируются затем в глиальную оболочку вновь образованного отростка.

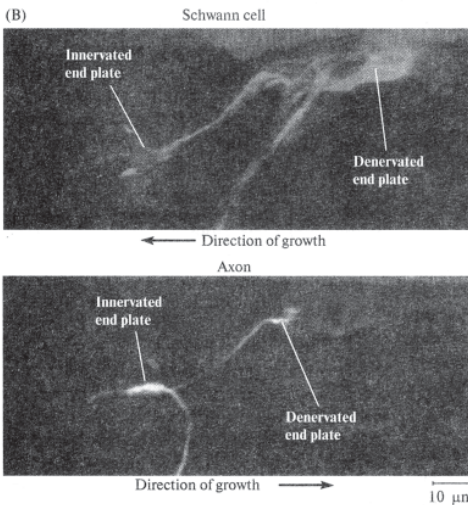
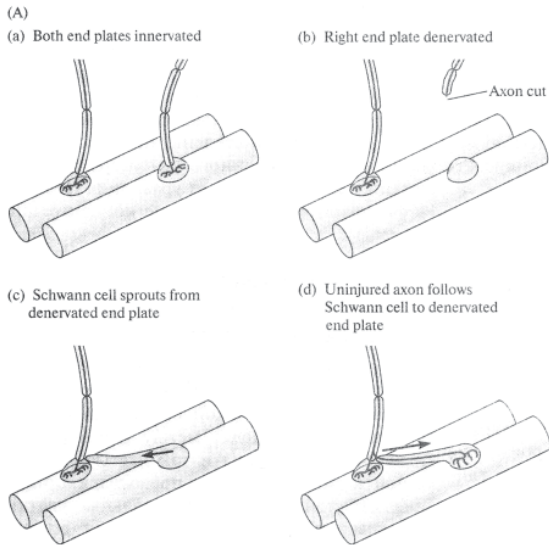


Рис. 14.11. Роль Шванновских клеток (ШК) в восстановлении нарушенных синаптических связей аксона двигательного нерва с концевой пластинкой мышечного волокна (по: Son, Thompson, 1995). (A) Последовательность событий при искусственной денервации мышечного волокна: (a) исходная ситуация (контроль); (b) дегенерация перерезанного нервного окончания (axon cut), иннервирующего правое мышечное волокно; (c) отросток ШК прорастает из области поражения в область мышечной пластинки на соседнем (левом) мышечном волокне; (d) веточка сохранного нервного волокна (слева) прорастает вдоль отростка ШК к денервированной концевой пластинке (справа) и устанавливает с ней синаптические связи. (B) Визуализация процесса восстановления иннервации денервированного мышечного волокна с помощью методов иммунной гистохимии. Процесс регенерации завершается через 3 часа после нанесения поражения и реализуется в два этапа: 1 этап — прорастание отростка ШК из области денервированной концевой пластинки (denervated end plate) в область сохранной концевой пластинки (innervated end plate) (направление роста ШК указано стрелкой под верхней частью рис. B) и 2 этап — прорастание веточки сохранного нервного волокна в обратном направлении вдоль отростка ШК (направление роста аксона указано стрелкой под нижней частью рис. B).

тка ШК из области денервированной концевой пластинки (denervated end plate) в область сохранной концевой пластинки (innervated end plate) (направление роста ШК указано стрелкой под верхней частью рис. B) и 2 этап — прорастание веточки сохранного нервного волокна в обратном направлении вдоль отростка ШК (направление роста аксона указано стрелкой под нижней частью рис. B).

В процессе регенерации Шванновские клетки не только играют роль своеобразных «направляющих опор» для растущих аксонов, но и формируют стимулирующее рост биохимическое окружение в зоне спраунтинга путем секреции нейротрофических факторов (*BDNF*, *NGF*) и факторов пролиферации (цитокинов ФИЛ и *Reg-2*), экспрессии на поверхности клеток молекул адгезии и интегринов, продукции компонентов внеклеточного матрикса (например, ламинина). Если в периферической нервной системе глия (ШК, микроглия) индуцирует рост нервной ткани, то при повреждении проводящих путей в ЦНС астроциты и олигодендроциты активно блокируют рост аксонов, образуя «глиальные рубцы» (рис. 14.12).

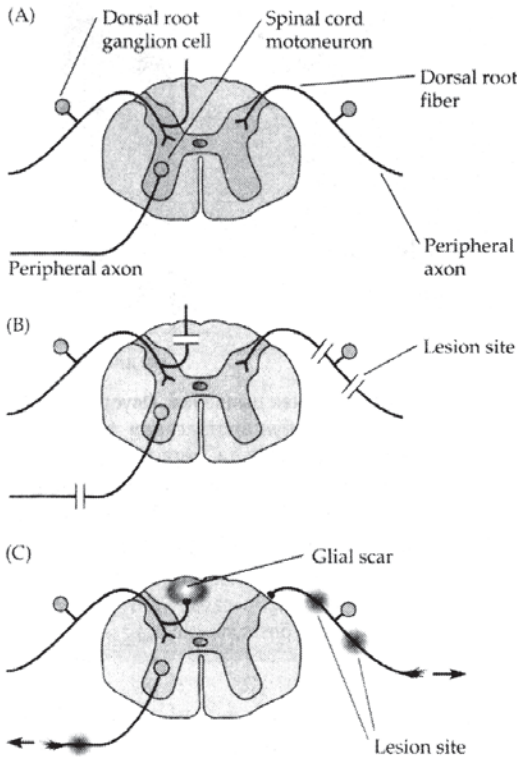


Рис. 14.12. Регенерация аксонов чувствительных и двигательных нейронов в периферической нервной системе млекопитающих (по: Николлс с соавт., 2003). (А) Схема локализации тел и отростков моторных (spinal cord motoneuron) и чувствительных (dorsal root ganglion cells) нейронов на уровне спинного мозга в норме. (В) Места повреждений (перезрезки) аксонов указаны двойными линиями (lesion site). (С) Места успешной регенерации волокон указаны темными кружками. Видно, что рост восстанавливающихся волокон блокируется в двух местах: в области контакта растущих периферических аксонов (peripheral axon) дорзального корешка с астроцитами на поверхности спинного мозга и в области глиальных рубцов (Glial scar), образуемых в местах по-

вреждения ЦНС. Таким образом, регенерация возможна только в периферической нервной системе. В ЦНС восстановление нервной ткани наблюдается только при инъекции в область повреждения экстракта Шванновских клеток.

Это достигается путем продукции клетками глии в зоне повреждения целого ряда факторов, ингибирующих рост аксонов и вызывающих коллапс конуса роста: свободных радикалов, окиси азота, производных арахидоновой кислоты, белков N1-35 и N1-250 (Николлс, 2003). Интересно, что поврежденные пути в ЦНС могут все-таки регенерировать, если в очаг поражения имплантировать суспензии ШК или же сегмент периферического нерва с оболочками из ШК (например, седалищного нерва). Так, при имплантации сегмента седалищного нерва в виде «мостика» между перерезанными участками спинного мозга мыши или крысы нарушенные волокна регенерировали и прорастали вдоль этого мостика в зону повреждения (Николлс, 2003). Экспериментально показано, что такие мостики, эффективно способствующие восстановлению функций мозга, могут организовываться между разными участками ЦНС, включая кору (David, Aguayo, 1981; Николлс, 2003) (рис. 14.13).

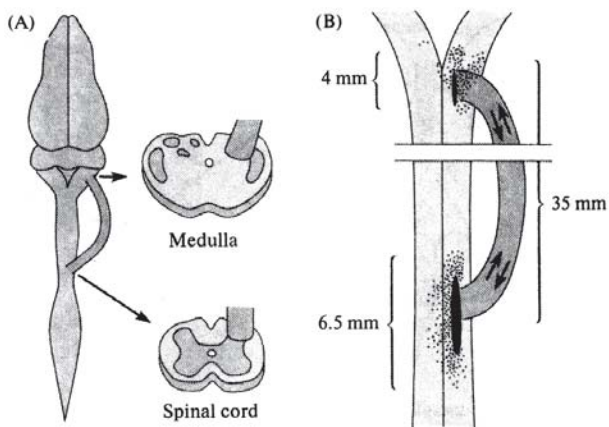


Рис. 14.13. Использование «глиальных мостиков» для восстановления поврежденных нервных связей (по: David, Aguayo, 1981). (А) Место размещения имплантата (куска седалищного нерва), соединяющего (в виде «мостика») разобщенные в результате перерезки области спинного (spinal cord) и продолговатого (medulla) мозга. (В) Области нейронов (зачернены), аксоны которых прорастали через «глиальный мостик». Видно, что эти участки располагались вблизи нижнего (6.5 mm) и верхнего (4 mm) концов имплантата.

14.3.2. Роль макроглии в миелинизации аксонов

Бесспорна и наиболее хорошо изучена роль глии в формировании и регенерации миелиновых оболочек, которые изолируют аксоны от окру-

жающей среды и за счет своего высокого сопротивления обеспечивают надежность и высокую скорость проведения возбуждения (рис. 14.14, 14.15).

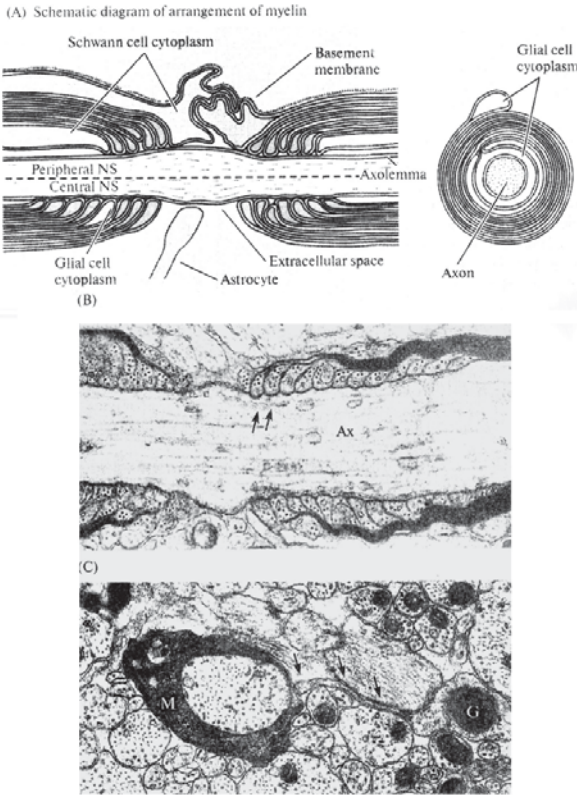


Рис. 14.14. Олигодендроглия (в ЦНС, Central NS) и Шванновские клетки (в периферической нервной системе, Peripheral NS) формируют миелиновые оболочки аксонов (по: Николлс с соавт., 2003). (А) Расположение глии в районе перехватов Ранвье (слева) и поперечный срез миелинизированного аксона (справа). *Обозначения:* Schwann cell cytoplasm — цитоплазма Шванновской клетки; Glial cell cytoplasm — цитоплазма олигодендроцита; Astrocyte — отросток астроцита; Extracellular space — экстраклеточное пространство; Basement membrane — базальная мембрана; Axon — аксон; Axolemma — аксоплазма. (В) Вид перехвата Ранвье волокна ЦНС крысы под электронным микроскопом. *Обозначения:* Ax — аксон; стрелками обозначены складки миелиновой оболочки. (С) Электронная микрофотография поперечного среза миелинизированного волокна в области перехвата Ранвье. *Обозначения:* М — миелин, G — астроцит, отросток которого (указан стрелками) подходит к перехвату Ранвье.

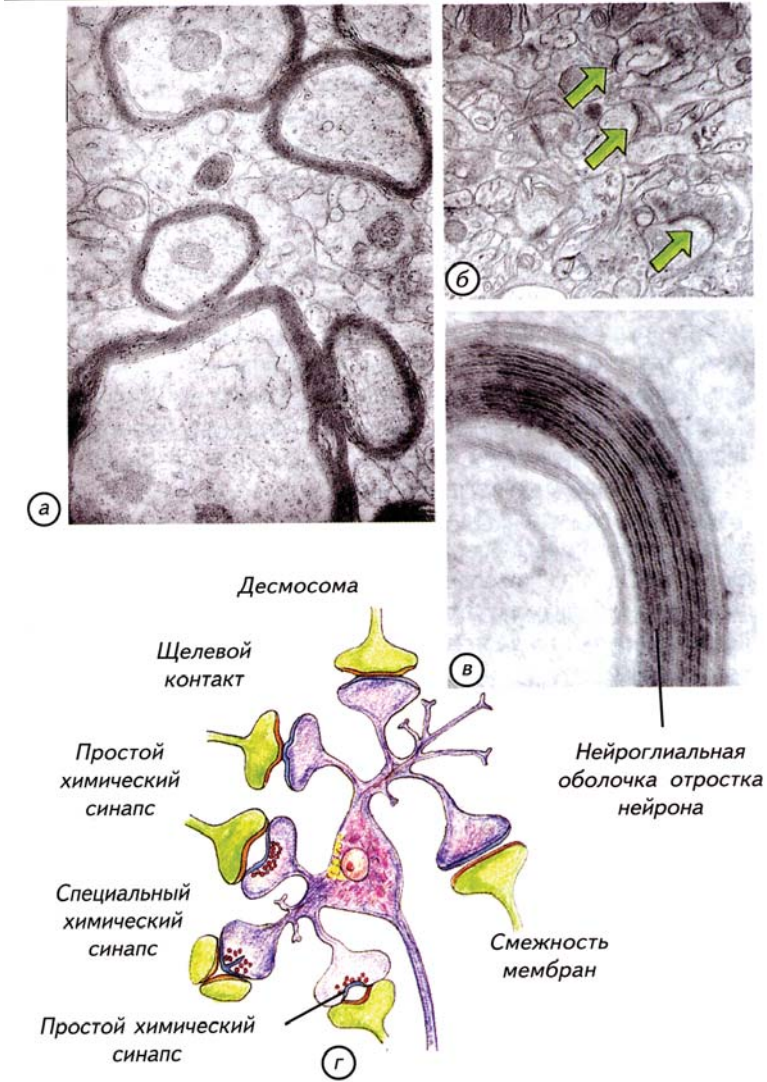


Рис. 14.15. Электронные микрофотографии оболочек аксонов нервных клеток (а, в; поперечные срезы отростков), образованные Шванновскими клетками; (г) — схема основных типов межнейронных синапсов; (б) — вид синаптических контактов под электронным микроскопом (обозначены зелеными стрелками) (по: Савельев, 2005).

Миелинизацию и ремиелинизацию (при повреждениях) аксонов нейронов в ЦНС осуществляют олигодендроциты, а в периферической нервной системе — Шванновские клетки.

Дефицит миелинизации в нервной системе (наследственный или приобретенный) является причиной ряда неврологических заболеваний, делающих человека инвалидом (рассеянный склероз, паралич, слепота и др.). Поэтому актуальной проблемой современных исследований в этой области является изучение молекулярных механизмов динамического взаимодействия глии и нейронов в процессах миелинизации, димиелинизации и ремиелинизации. К настоящему времени идентифицированы основные белки, обеспечивающие это взаимодействие. В частности, выявлена критически важная роль в формировании периферического миелина белка РМР22, выделяемого Шванновскими клетками (Notterpek et al., 1997). Точечная мутация этого белка, выражающаяся в замене всего лишь одной аминокислоты лейцина на пролин, является причиной наследственной нейропатии у человека. Обнаружено, что аденозин, образующийся из АТФ в результате реакции дефосфорилизации, стимулирует рост олигодендроглии и выработку миелина (Stevens et al., 2002).

Если олигодендроциты и Шванновские клетки обеспечивают миелинизацию аксонов, то другие клетки макроглии — астроциты — участвуют при этом в кластеризации натриевых каналов в перехватах Ранвье (Rasband et al., 1999). В частности, выдвинута и обсуждается гипотеза о том, что молекулярные комплексы, образующие натриевые каналы, переносятся от астроцитов и встраиваются в мембраны перехватов Ранвье (Shrager et al., 1985). В пользу такого предположения свидетельствуют данные о высокой плотности натриевых каналов в мембранах астроцитов (Ritchie et al., 1990).

14.3.3. Роль глии в снабжении нейронов питательными веществами и регуляции кровоснабжения мозга

Гипотеза о «метаболических функциях» глии была сформулирована в 1883 г. знаменитым итальянским гистологом, лауреатом Нобелевской премии по физиологии и медицине 1906 г. (совместно с Рамон-и-Кахалом) К. Гольджи. Гипотеза базировалась на морфологических данных об интенсивных ветвлениях концевых отростков глии вокруг сосудистых капилляров мозга. Современные данные подтверждают возможность участия глии в снабжении нейронов питательными веще-

ствами (Ransom, Fern, 1997). В частности, показано, что Мюллеровские клетки сетчатки вырабатывают и выделяют в экстраклеточное пространство молочную кислоту (лактат), потребность в которой у клеток сетчатки резко увеличивается в состоянии повышенной активности или же недостатке кислорода.

Имеются косвенные данные об участии астроцитов в снабжении нейронов кислородом и глюкозой путем локальной регуляции просвета кровеносных капилляров. Выдвинутая Paulson & Newman (1987) гипотеза о механизмах такой регуляции, по сути, не отличается от «метаболической гипотезы» К. Гольджи, но предполагает обратный характер взаимодействия глии и нейронов в процессе снабжения последних питательными веществами. А именно: не глия переносит метаболиты от крови к нейронам (гипотеза Гольджи), а сами нейроны путем локальной активации глии вызывают расширение сосудов и, как следствие, локально увеличивают приток глюкозы и кислорода (гипотеза Paulson & Newman, 1987).

14.3.4. Роль глии в поддержании гомеостаза ионного состава экстраклеточной среды

Высокая чувствительность глии к ионам калия послужила основанием для выдвижения гипотезы о том, что глиальные клетки включены в процесс перераспределения ионов калия во внеклеточной среде, образуя в нервной системе своеобразный «пространственный буфер экстраклеточной концентрации калия» (Николлс и др., 2003). Необходимость в таком перераспределении ионов калия возникает в связи с неравномерной активностью нейронов в разных локусах нервной сети: в областях повышенной активности экстраклеточная концентрация калия выше, нежели в других отделах. Этот дисбаланс в пространственном распределении ионов калия является результатом активации потенциалзависимых калиевых каналов, выход наружу ионов калия через которые обеспечивает реполяризацию мембраны активированных нейронов и формирует задний фронт потенциала действия. Таким образом, активность нейрона, сопровождаемая нарастанием выходящего калиевого тока, приводит к накоплению экстраклеточного калия и, как следствие, к увеличению входящего калиевого тока (деполяризации) в рядом расположенной клетке глии. Далее входящий калиевый ток из локуса повышенной концентрации калия распространяется по электрохимическому градиенту в другие части

глиальной клетки (с более низкой концентрацией калия) и через электрические синапсы — в другие клетки глиального синцития. Такая схема перераспределения внеклеточного калия между областями с разным уровнем нейронной активности косвенно подтверждается в экспериментах с внутриклеточной регистрацией потенциалов глии оптического нерва тритона (*Necturus*) (рис. 14.16) и Мюллеровских клеток сетчатки саламандры (рис. 14.10).

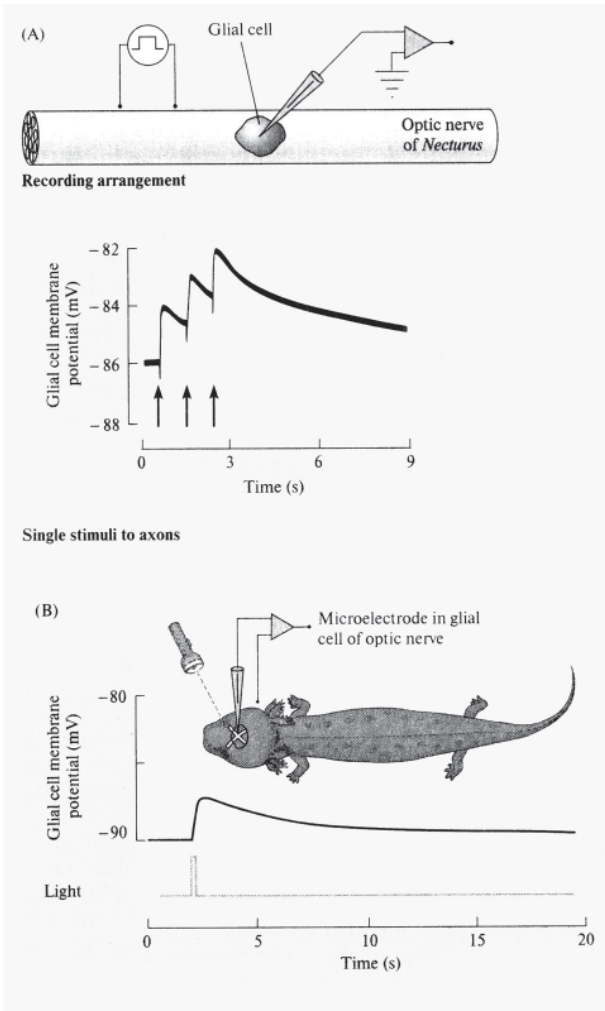


Рис. 14.16. Связь мембранного потенциала глиальной клетки оптического нерва тритона с активностью прилегающих оптических волокон (по: Orkand, Nicholls, Kuffler, 1966). (A) Электрическая стимуляция оптических волокон сопровождается деполяризацией в соседних глиальных клетках. *Вверху* — схема стимуляции (recording arrangement) и регистрации активности глиальной клетки (glial cell) и оптического нерва тритона (Optic nerve of *Necturus*), *внизу* — график зависимости величины мембранного потенциала глиальной клетки (ось ординат, мВ) от частоты электрической стимуляции (моменты нанесения стимулов указаны стрелками). (B) Короткая (0.1 с) вспышка света (light) активирует оптический нерв, что сопровождается деполяризацией в соседней глиальной клетке (glial cell membrane potential, mV).

Теоретический анализ функционирования «пространственного буфера», основанный на ряде предположений о пассивном и активном транспорте калия в нейронах и глии, представлен в работе Odette L. L. & Newman E. A. (1988).

Из вышеизложенного следует, что активность глии косвенным образом — через реакции на изменения в распределении внеклеточного калия и поглощение внеклеточного кальция — отражает активность нейронных структур. Согласно широко распространенной среди нейроученых «глиальной гипотезе» Ройтбака А.И., суммарная активность головного мозга (электроэнцефалограмма, ЭЭГ) является отражением электрической активности глии. С этой точки зрения, сигналы глии, а не нейронов, являются до настоящего времени прямым и основным источником информации о работе мозга в нейронауках. Гипотеза Ройтбака А.И. подтверждается в работах на сетчатке («кусочке мозга, вынесенном наружу»), где экспериментально продемонстрирована тесная связь между внутриклеточно регистрируемыми реакциями Мюллеровских клеток и суммарной электрической активностью сетчатки (электроретинограммой, ЭРГ) (Newman, 1985, 1988).

14.3.5. Участие глии в формировании гематоэнцефалического барьера и реакциях иммунной системы

Глия является важной составной частью гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) (рис. 14.17).

При этом в ЦНС (головной и спинной мозг) барьерные функции выполняются, в основном, нейроглией (астроциты, олигодендроциты) и сосудистыми сплетениями, а в периферической нервной системе — Шванновскими клетками. В опытах на культуре ткани показано, что плотные контакты между клетками эндотелия кровеносных сосудов, обеспечивающие непроницаемость сосудов для чужеродных молекул, формируются только в присутствии астроцитов (Tao-Cheng et al., 1990). О влиянии глии не только на формирование, но и на функционирование уже сформированного ГЭБ свидетельствуют также данные о регуляции глиальными клетками просвета сосудов путем воздействия на образующие ГЭБ эндотелиальные клетки. По гипотезе Paulson & Newman (1987), такое воздействие осуществляется с помощью ионов калия, протонов или закиси азота (NO), выделяемых из отростков астроцитов.

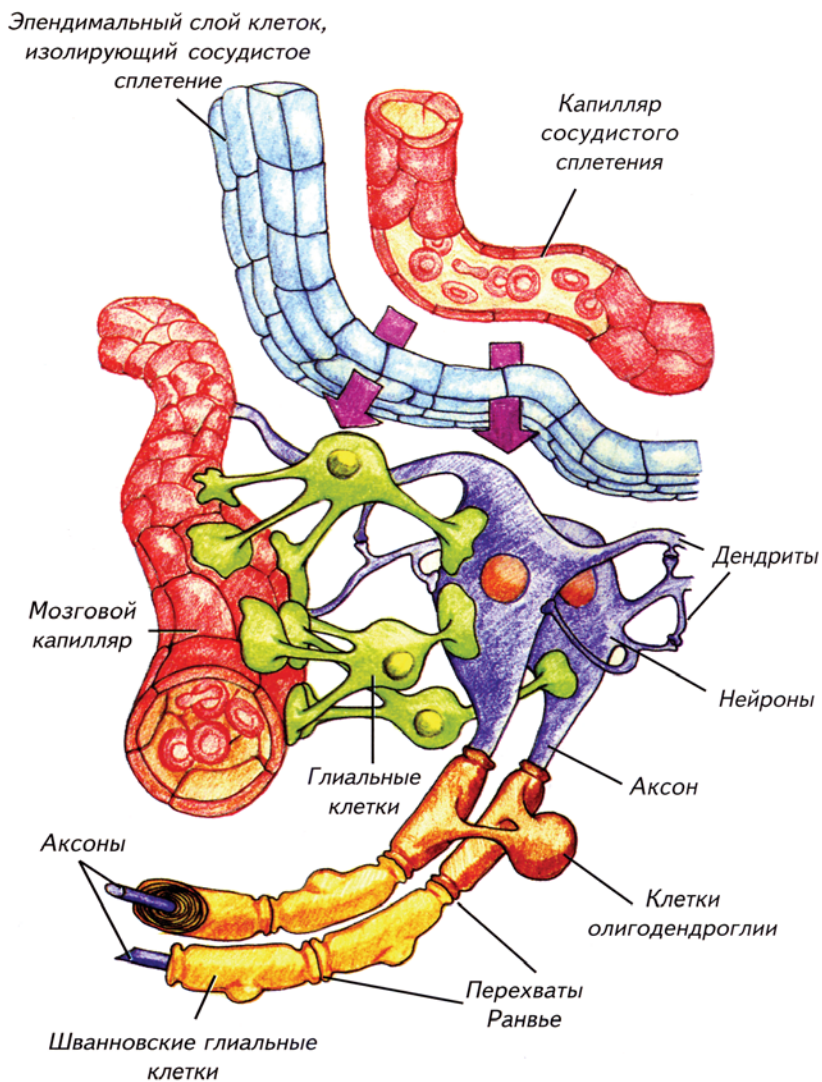


Рис. 14.17. Особенности организации гематоэнцефалического барьера в ЦНС и периферической нервной системе (по: Савельев, 2005). В ЦНС (головной и спинной мозг) барьерные функции выполняют нейроглия (астроциты, олигодендроциты) и сосудистыми сплетениями, а в периферической нервной системе — Шванновскими клетками.

Небольшое число работ указывает на возможное участие глии во взаимодействиях между нервной и иммунной системами (Ник. и др., 2003). В культуре ткани и *in situ* обнаружено, что астроциты могут взаимодействовать с Т-лимфоцитами, а совместные действия микроглии и Т-лимфоцитов могут вызывать острое воспаление мозговой ткани (Newman, Reichenbach, 1996; Newman, Sahs, 1998). Эти данные особенно интересны в свете устоявшихся представлений о независимости нервной системы от контроля со стороны иммунной системы.

14.3.6. Участие глии в развитии и функционировании нейронных сетей

14.3.6.1. Глия и нейрогенез.

В процессе эмбрионального развития нервной системы все клетки макроглии секретируют вещества, необходимые для управления ростом нервной ткани, — фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF); специфический глиальный белок, стимулирующий рост нейритов (glial-derived pexin, GDN): ламинин, белок-репеллент N1-25/250 (Николлс с соавт., 2003). Еще один процесс в развивающейся нервной системе, протекающий с активным участием глии, — это формирование ядерных структур, границы которых еще до момента начала агрегации нейронов в ядра определяются (обозначаются) глиальными клетками (Willbold et al., 1995). И, наконец, миграция развивающихся нейронов к местам назначения осуществляется, как в эмбриогенезе, так и во время прижизненного нейрогенеза, вдоль отростков клеток радиальной глии в ЦНС и отростков Шванновских клеток в периферической нервной системе (рис. 14.11, 14.18) (Rakic, 1981; Hatten, 1999).

То, куда будет мигрировать клетка-предшественник нейрона (в гиппокамп, кору и т.д.), определяется при этом специфичностью контакта клетки с поверхностно расположенными на мембране глиальной клетки молекулами аттрактантов (по принципу «ключ-замок»; Николлс с соавт., 2003). Спраутинг аксонов, стимулируемый глиальными клетками, играет важную роль в процессах восстановления поврежденной нервной ткани во взрослом организме (рис. 14.11-14.13). В опытах на культуре ткани сетчатки крысы выявлено, что синапсы на зрительных нейронах образуются только в присутствии астроцитов, выделяющих при этом такие критически важные соединения, как жировой комплекс под названием *apoE*/холестерин и белок тромбоспондин (Филдз, 2004).

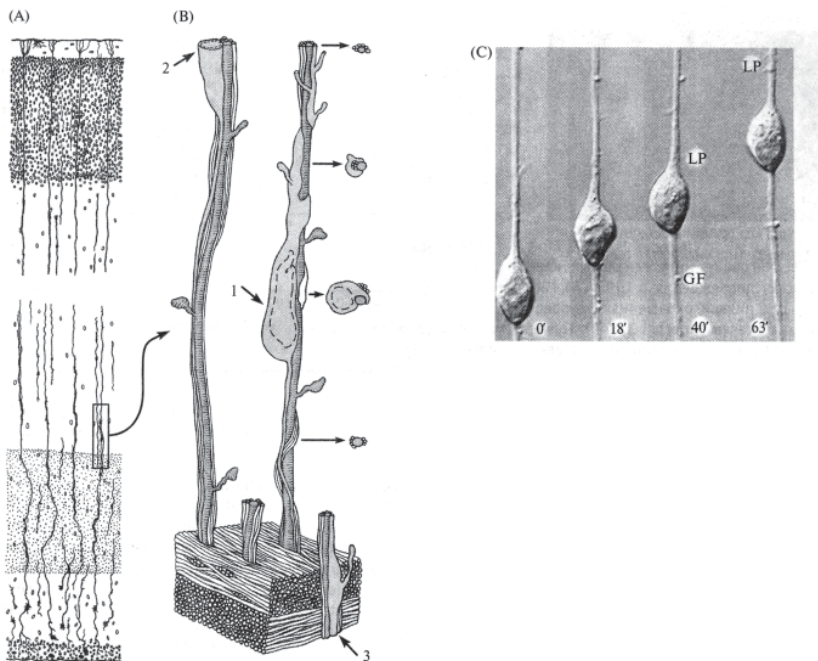


Рис. 14.18. Роль радиальной глии в процессах формирования развивающейся нервной системы (по: Rakic, 1988 (A, B); Hatten, 1990 (C)). (A) На срезе развивающейся затылочной коры плода обезьяны радиальные волокна расположены вдоль путей миграции формирующихся нейронов от вентрикулярной зоны (внизу) к поверхностным слоям (вверху). (B) Клетки коры мигрируют к местам своего назначения с помощью специальных (ведущих) отростков, ориентированных вдоль волокон радиальной глии как своеобразных «направляющих» (проводников). Клетки 1, 2, 3 — вновь образующиеся нейроны на разных этапах миграции из вентрикулярной зоны в поверхностные слои (клетка 3 — в начале, а клетка 2 — в конце своего «путешествия»). (C) Видеосъемка миграции нейрона гиппокампа вдоль волокна радиальной глиальной клетки (glial fiber, GF) in vitro с течением времени (указано в минутах внизу) ведущий отросток (leading process, LP) постепенно перемещается вверх вместе со следующим за ним телом новой клетки. Однако имеются данные, свидетельствующие о возможности роста и регенерации нервной ткани и вне контакта с глией (Николлс с соавт., 2003). Так, большая часть нейронных синапсов формируется на тех этапах эмбриогенеза, когда количество глиальных клеток крайне мало. Эти и другие факты подобного рода противоречат, по мнению Дж.Николлса с соавт. (2003), устоявшейся точке зрения, согласно которой «синапсы не могут ни формироваться, ни функционировать в отсутствие глиальных клеток» (Pfrieger, Barres, 1996).

14.3.6.2. Участие глии в процессах межнейронной коммуникации, механизмах памяти и обучения

14.3.6.2.1. Глия и межсинаптическое взаимодействие. По данным современной нейрофизиологии, пресинаптически выделяемый нейромедиатор может диффундировать за пределы отдельной синаптической щели и воздействовать на соседние синапсы. Такое взаимодействие между независимыми синапсами называется межсинаптическим (кроссинаптическим, гетеросинаптическим) взаимодействием. Одним из наиболее исследованных случаев гетеросинаптической модуляции активности нейронов является тормозное влияние глутамат-эргического нейрона на соседние ГАМК-эргические клетки. Механизмом этого межсинаптического взаимодействия является диффузия глутамата из глутамат-эргических синапсов на соседние ГАМК-эргические пресинаптические терминалы и блокада там выделения ГАМК путем активации пресинаптических метаботропных глутаматных рецепторов (пример «пресинаптического торможения через возбуждение»). Эффективность межсинаптического взаимодействия естественным образом зависит от эффективности поглощения диффундирующего глутамата рядом расположенными астроцитами. В работе Piet et al. (2004), выполненной на нейронных срезах супраоптического ядра гипоталамуса крысы, показано, что под влиянием разного рода естественных биохимических факторов (например, гормона окситоцина) степень поглощения глутамата астроцитами меняется. Как следствие, меняется — уменьшается или увеличивается — эффективность глутамат-индуцируемого торможения ГАМК-эргической передачи. Сходные типы нейрон-глиальных взаимодействий описаны в других отделах мозга и для случаев других медиаторов (Roitbak, Sykova, 1999). Высказывается точка зрения, что астроциты не только опосредуют взаимодействие между соседними синапсами, но и, более широко, являются универсальным регулятором так называемой объемной экстрасинаптической передачи, опосредуемой нейромедиаторами, пептидами, эндоканнабиноидами и нейростероидами (Nicholson, 2000; Sykova, 2001; Nishiyama et al., 2002; Piet et al., 2004).

14.3.6.2.2. Участие глии в механизмах памяти и обучения реализуется путем взаимодействия с нейронами в области основного звена пластических перестроек в мозге — межнейронных синапсов (Nagler et al., 2001; Филдз, 2004; Todd et al., 2006; Nishida, Okabe, 2007; Boehler et al., 2007). Наибольшее число свидетельствующих об этом данных

получено в опытах на срезах гиппокампа (Haber, Murai, 2006). Здесь обнаружено, что активное поглощение кальция астроцитами в области синапса, активированного методом лазерной аппликации микродоз глутамата, приводит к усилению синаптической связи (Sul et al., 2004). Увеличение эффективности синаптической передачи проявляется в увеличении выброса нейромедиатора при каждом новом (последующем) возбуждении пресинапса. С помощью локально распространяющихся кальциевых волн пластическим перестройкам подвергаются, хотя и в меньшей степени, также и другие близлежащие синапсы.

Молекулярной основой синаптической пластичности, связанной с активацией глии, является, по-видимому, упомянутое выше выделение глиальными клетками таких факторов синаптогенеза, как *apoE*/холестерин и белок тромбоспондин (Филдз, 2004). Не исключено, что необходимостью в производстве этих факторов объясняется обнаруженный в работах Д. Филдза (Филдз, 2004) факт активации входящим в глиальную клетку кальцием специфических сигнальных молекул, достигающих ядра и «включающих» там определенные гены. На рис. 14.8 суммированы современные данные об основных типах взаимодействия между глией и нейроном в области пластичных синапсов, образующих, согласно «коннекционистской модели», механизм формирования следов памяти.

По данным сравнительной анатомии, соотношение между глией и нейронами в мозге увеличивается с повышением ранга положения животного на «эволюционной лестнице» (Филдз, 2004; Sherwood et al., 2006). С учетом этого и других, рассмотренных в этой главе фактов Ph. G. Hayden (2002) высказал гипотезу о том, что возрастание плотности глиальной сети приводит к увеличению способности животных к обучению. Хорошо согласуются с этой гипотезой полученные *post mortem* данные о необычайно высокой концентрации нейроглии в областях фронтальной коры мозга А. Эйнштейна (Paterniti, 2001).

Выводы

- Глиальных клеток всех типов примерно в 9-10 раз больше, чем нейронов, что составляет около половины объема всей нервной системы.
- Клетки глии способны делиться и размножаться во взрослом организме.
- Имеется принципиальное сходство в строении и свойствах глиальных клеток беспозвоночных и позвоночных животных. По данным сравнительной анатомии, соотношение между глией и нейронами в

мозге увеличивается с повышением ранга положения животного на «эволюционной лестнице».

- Общепринято делить глию на «микроглию», «макроглию» и «радиальную глию».

- Макроглия включает астроциты, олигодендроциты, Шванновские клетки и клетки радиальной глии.

- Микроглия образована особой популяцией клеток-фагоцитов нервной системы.

- Глиальные клетки одного типа связаны между собой щелевыми синапсами и образуют единую электрически однородную сеть («синцитий»).

- В мембранах астроцитов и Шванновских клеток имеются калиевые и хлорные ионные каналы, а также потенциал-зависимые натриевые и кальциевые каналы. При этом доминирует калиевая проводимость.

- В мембранах клеток глии обнаружены ионные помпы для трансмембранного транспорта ионов натрия и калия, бикарбоната и протонов.

- В мембранах астроцитов, олигодендроцитов и Шванновских клеток широко представлены рецепторы и транспортеры для таких нейромедиаторов, как глутамат, ГАМК, глицин, ацетилхолин и норадреналин.

- Обнаружен факт активации входящим в глиальную клетку кальцием специфических сигнальных молекул, достигающих ядра и запускающих там считывание информации с определенных генов.

- Мембранный потенциал клеток макроглии полностью определяется потенциалом электрохимического равновесия для ионов калия. Глиальные клетки включены в процесс перераспределения ионов калия во внеклеточной среде, образуя в нервной системе «пространственный буфер экстраклеточной концентрации калия».

- Совместно с макрофагами крови клетки микроглии активно участвуют в удалении продуктов распада поврежденных клеток, а совместно с клетками макроглии — в рубцевании и регенерации нервной ткани.

- Миелинизацию и ремиелинизацию (при повреждениях) аксонов нейронов в ЦНС осуществляют олигодендроциты, а в периферической нервной системе — Шванновские клетки.

- Астроциты участвуют в кластеризации натриевых каналов в перехватах Ранвье.

- Современные данные подтверждают участие глии в снабжении нейронов питательными веществами (лактат, кислород, глюкоза).
- Глия является важной составной частью гематоэнцефалического барьера.
- Глиальные клетки включены во все процессы мозга, требующие пластических перестроек нейронных сетей: эмбриогенез и прижизненный нейрогенез, формирование следов памяти, регенерация поврежденной нервной ткани.
- Участие глии в механизмах памяти и обучения реализуется путем взаимодействия с нейронами в области основного звена пластических перестроек в мозге — межнейронных синапсов.
- Астроциты опосредуют взаимодействие между соседними межнейронными синапсами и, возможно, являются универсальным регулятором так называемой объемной экстрасинаптической передачи, опосредуемой нейромедиаторами, пептидами, эндоканнабиноидами и нейростероидами.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Блум Ф., Лайзерсон А., Ховстедтер Л. Мозг: Разум и поведение. М.: Мир, 1988. 300 с.
2. Корочкин Л. И., Михайлов А. Т. Введение в нейрогенетику. М.: Наука, 2000. 274 с.
3. Николлс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. М.: УРСС, 2003. 671 с.
4. Оленев С. Н. Развивающийся мозг. М.: Наука, 1978. 214 с.
5. Савельев С. В. Происхождение мозга. М.: ВЕДИ, 2005. 368 с.
6. Симонов П. В. (ред.). Мозг: сборник статей. М.: Мир, 1981. 250 с.
7. Филдз Д. Другая часть мозга // В мире науки. 2004 (июль). С. 22-31.
8. Шмидт Р., Тевс Г. (ред.). Физиология человека. В 3 т. М.: Мир, 1996. Т. 1. 323 с.
9. Шульговский В. В. Физиология центральной нервной системы. М.: Изд. МГУ, 1997. 396 с.

Дополнительная

1. Astion M. L., Chavatal A., Orkand R.K. Further studies of electrogenic $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ cotransport in glial cells of *Necturus* optic nerve: Regulation of pH // *Glia*. 1991. Vol. 4. Issue 4. PP. 461-468.
2. Billups B., Attwell D. Modulation of non-vesicular glutamate release by pH // *Nature*. 1999. No 379. PP. 171-174.

3. Boehler M. D., Wheeler B. C., Brewer G. J. Added astroglia promote greater synapse density and higher activity in neuronal networks // *Neuron Glia Biology*. 2007. Vol. 3. Issue 02. PP. 127-140.
4. Broeke J. Oligodendrocyte transfected with GFP (Green Fluorescent Protein) recorded using a 63x objective 3 days in vitro mouse // Викисклад изображений. Википедия: [http:// commons.wikimedia.org](http://commons.wikimedia.org).
5. Butt A. M., Ransom B. R. Morphology of astrocytes and oligodendrocytes during development in the intact rat optic nerve // *J. Compar. Neurol.* 1993. Vol. 338. Issue 1. PP. 141-158. Brown H. C., Perry V. H. Differential adhesion of macrophages to white and grey matter in an in vitro assay // *Glia*. 1998. Vol. 23. Issue 4. PP. 361-373.
6. David S., Aguayo A. J. Axonal elongation into peripheral nervous system «bridges» after central nervous system injury in adult rats // *Science*. 1981. No 214. PP. 931-933.
7. Ekblom P., Timpl P. (Eds.). *The laminins* // Amsterdam. Harwood Academic Publishers. 1996.
8. Fields R. D. Advances in understanding neuron-glia interactions // *Neuron Glia Biology*. 2006. Vol. 2. PP. 23-26.
9. Haber M., Murai K. K. Reshaping neuron-glia communication at hippocampal synapses // *Neuron Glia Biology*. 2006. Vol. 2. PP. 59-66.
10. Hatten V. E. Central nervous system neuronal migration // *Annu Rev Neurosci*. 1999. Vol. 22. PP. 511-39.
11. Henn F. A., Hamberger A. Glial Cell Function: Uptake of Transmitter Substances (rabbit brain/- γ -aminobutyric acid/serotonin/dopamine/norepinephrine) // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1971. Vol. 68, No. 11, pp. 2686-2690.
12. Kuffler S. W., Nicholls J. G. *The physiology of neuroglial cells* // *Ergeb Physiol*. 1966. Vol. 57. PP. 1-90.
13. Kuffler S. W., Nicholls J. G., and Orkand R. K. Physiological properties of glial cells in the central nervous system of amphibia // *J. Neurophysiol*. 1966. Vol. 29. PP. 768-787.
14. McGlade-McCulloh E., Morrissey A. M., Norona F., and Muller K. J. Individual microglia move rapidly and directly to nerve lesions in the leech central nervous system // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1989. Vol. 86. PP. 1093-1097.
15. Nagler K., Mauch D. H., Pfrieder F. W. Glia-derived signals induce synapse formation in neurones of the rat central nervous system // *J. Physiol*. 2001. Vol. 533. PP. 665-679.
16. Matsui K., Hosoi N., Tachibana M. Active Role of Glutamate Uptake in the Synaptic Transmission from Retinal Nonspiking Neurons // *J. Neurosci*. 1999. Vol. 19. PP. 6755-6766.
17. Newman E. A. Membrane physiology of retinal glial (Muller) cells // *J. of Neuroscience*. 1985. Vol. 5. PP. 2225-2239.
18. Newman E. A. Electrophysiology of Retinal Glial Cells // *Progress in Retinal Research*. 1988. Vol. 8. PP. 153-171.

19. Newman E. A., Reichenbach A. The Müller cell: a functional element of the retina // *Trends Neurosci.* 1996. Vol. 19. PP. 307-312.
20. Newman E. A., Zahs K. R. Modulation of neuronal activity by glial cells in the retina // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18. PP. 4022-4028.
21. Nicholson C. Volume transmission in the year 2000 // *Prog. Brain Res.* 2000. Vol. 125. PP. 437-446.
22. Nishida H, Okabe S. Visualization of synapse-glia dynamics // *Brain Nerve.* 2007. Jul. 59 (7). PP. 755-61.
23. Nishiyama H., Knopfel T., Endo S., and Itohara S. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity // *PNAS USA.* 2002. Vol. 99. No 6. PP. 4037-4042.
24. Notterpek L., Shooter E. M., Snipes G. J. Upregulation of the Endosomal-Lysosomal Pathway in the Trembler-J Neuropathy // *J. Neurosci.* 1997. Vol. 17. PP. 4190-4200.
25. Odette L. L., Newman E. A. Model of potassium dynamics in the central nervous system // *Glia.* 1988. Vol. 1. PP. 198-210.
26. Orkand R. K., Nicholls J. G., and Kuffler S. W. Effect of nerve impulses on the membrane potential of glial cells in the central nervous system of amphibia / *J. Neurophysiol.* 1966. Vol. 29. PP. 788-806.
27. Paterniti M. Driving Mr. Albert: A Trip across America with Einstein's Brain // Publisher: Delta. 2001.
28. Paulson O. B., Newman E. A. Does the release of potassium from astrocyte endfeet regulate cerebral blood flow? // *Science.* 1987. Vol. 237. PP. 896-898.
29. Pfrieger F. W., Barres B. A. New views on synapse-glia interactions // *Curr. Opin. Neurobiol.* 1996. Vol. 6. PP. 615-621.
30. Piet R., Vargova L., Sykova E., Poulain D. A., Oliet St.H.R. Physiological contribution of the astrocytic environment of neurons to intersynaptic crosstalk / *PNAS.* 2004. Vol. 101. No 7. PP. 2151-2155.
31. Porter J. T., McCarthy K. D. Astrocytic neurotransmitter receptors in situ and in vivo // *Prog. Neurobiol.* 1997. Vol. 51. Issue 4. PP. 439-455.
32. Rakic P. Neuronal-glia interaction during brain development // *Trends in Neurosci.* 1981. Vol. 4. PP. 184-187.
33. Ransom B. R., Fern R. Does astrocytic glycogen benefit axon function and survival in CNS white matter during glucose deprivation? // *Glia.* 1997. Vol. 21. Issue 1. PP. 134-141.
34. Rasband M. N., Peles E., Trimmer J. S., Levinson S. R., Lux S. E., Shrager P. Dependence of nodal sodium channel clustering on paranodal contact in the developing CNS // *J. Neurosci.* 1999. Vol. 19. PP. 7516-7528.
35. Ritchie J. M., Black J. A., Waxman S. G., and Angelides K. J. Sodium channels in the cytoplasm of Schwann cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1990. Vol. 87. PP. 9290-9294.
36. Roitbak T., Sykova E. Diffusion barriers evoked in the rat cortex by reactive astrogliosis // *Glia.* 1999. Vol. 28. PP. 40-48.

37. Smith P. J., Howes E. A., Treherne J. E. Mechanisms of glial regeneration in an insect central nervous system // J. Exp. Biol. 1987. Vol. 132. PP. 59-78.
38. Sherwood Ch. C., Stimpson C. D., Raghanti M. A., Wildman D.E., Uddin M. et.al. Evolution of increased glia-neuron ratios in the human frontal cortex // PNAS. 2006. Vol. 103. PP. 13606-13611.
39. Shrager P., Chiu S. Y., Ritchie J. M. Voltage-dependent sodium and potassium channels in mammalian cultured Schwann cells // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985. Vol. 82. PP. 948-952.
40. Son Y. J., Thompson W. J. Schwann cell processes guide regeneration of peripheral axons // Neuron. 1995 a. No 14. PP. 125-132.
41. Son Y. J., Thompson W. J. Nerve sprouting in muscle is induced and guided by processes extended by Schwann cells // Neuron. 1995 b. No 14. PP. 133-141.
42. Stevens B., Porta S., Haak L. L., Gallo V., Fields R. D. Adenosine: A Neuron-Glial Transmitter Promoting Myelination in the CNS in Response to Action Potentials // Neuron. 2002. Vol. 36. No 5. PP. 855-868.
43. Sul J. Y., Orosz G., Givens R. S., Haydon Ph. G. Astrocytic Connectivity in the Hippocampus // Neuron Glia Biology. 2004. Vol. 1. PP. 3-11.
44. Szatkowski M., Barbour B., Attwell D. Non-vesicular release of glutamate from glial cells by reversed electrogenic glutamate uptake // Nature. 1990. Vol. 348. PP. 443-446.
45. Sykova E. Glial diffusion barriers during aging and pathological states // Prog. Brain Res. 2001. Vol. 132. PP. 339-363.
46. Takahashi M., Billups B., Rossi D., Sarantis M., Hamann M., and Attwell D. The role of glutamate transporters in glutamate homeostasis in the brain // J. Exp. Biol. 1997. Vol. 200. PP. 401-409.
47. Tao-Cheng J. H., Nagy Z., Brightman M. W. Astrocytic orthogonal arrays of intramembranous particle assemblies are modulated by brain endothelial cells *in vitro* // J. Neurocytol. 1990. Vol. 19. PP. 143-153.
48. Todd K. J., Serrano A., , Robitaille R. Glial cells in synaptic plasticity // J. Physiol. Paris. 2006. Mar-May. Vol. 99(2-3). PP. 75-83.
49. Willbold E., Reinicke M., Lance-Jones C., Lagenaur C., Lemmon V., Layer P.G. Müller Glia Stabilizes Cell Columns During Retinal Development: Lateral Cell Migration but not Neuropil Growth is Inhibited in Mixed Chick-Quail Retinospheroids // Eur. J. Neurosci. 1995. Vol. 7. PP. 2277-2284.
50. Journal «Neuron-Glia Biology»: www.journals.cambridge.org/jid-NGB.

Раздел V. МОДЕЛИРОВАНИЕ НЕЙРОНА

Глава 15. НЕЙРОН КАК ОБЪЕКТ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Моделирование нейрона в последние десятилетия приобретает все большую актуальность, так как, с одной стороны, становится эффективным инструментом исследований нервной клетки как чрезвычайно сложной системы, а с другой, — служит базой для создания искусственных нейронных сетей — технологии, находящей свое применение в различных сферах человеческой деятельности.

Под моделью нейрона понимается представление исходной структуры живого нейрона и протекающих в нем процессов в форме математических объектов и отношений между ними. Парадигмы моделирования нервной клетки развиваются в рамках математической биологии и биоинформатики, а также в рамках вычислительных нейронаук и других научных направлений.

С учетом назначения и степени приближения к объекту могут быть выделены два класса моделей нейронов: модели обработки сигналов в нейроне и «портретные» модели нервных клеток. При этом в классе моделей обработки сигналов в нейроне можно различать простые формальные модели нейрона и биологически правдоподобные модели обработки сигналов в нейроне.

15.1. Актуальность моделирования нейрона как сложной системы

Моделирование нервных клеток, в том числе нейронов, в последние десятилетия приобретает все большее значение. Этому способствуют два основных обстоятельства.

Первой причиной является то, что моделирование становится необходимым, а в ряде случаев наиболее эффективным методом исследования нейрона.

Сегодня все более ясным становится понимание того факта, что отдельная нервная клетка по сложности своей структуры и организации протекающих внутриклеточных процессов не уступает или даже превосходит сложность клеточной организации биологических нейронных сетей, элементом которых эта нервная клетка является. По выражению некоторых исследователей, нейрон сам по себе является гиперсистемой (Савельев А. В., 2006). Действительно, количество молекул, образующих нервную клетку, на много порядков превосходит количество клеток в любой нервной системе. Эти молекулы фор-

мируют большое количество внутриклеточных образований различного функционального назначения. Некоторые из этих внутриклеточных структур сами по себе могут сравниться по сложности с целыми функциональными нейросетевыми ансамблями. Достаточно вспомнить организацию системы микротрубочек нейронального цитоскелета. В нейрците синтезируется порядка десяти тысяч различного рода белков. В сигнальном пути между клетками используются десятки видов медиаторов, причем количество известных трансмиттеров постоянно увеличивается. Медиаторное воздействие может передаваться как трансинаптически, так и диффузным образом, с использованием внесинаптических рецепторов. При этом возможно совместное воздействие на нейрцит многих комедиаторов. Более того, один и тот же медиатор может по-разному воздействовать на рецепторы различных классов. Это приводит к появлению вызванных постинаптических потенциалов, а также серий потенциалов действия, различающихся по своим параметрам и сопровождающихся рефрактерными периодами. Биохимические реакции в нейрците образуют огромное количество химических путей, напоминающих сетевые макроструктуры. Эти пути включают в себя большое число различных молекулярных посредников, могут пересекаться и оказывать взаимовлияние друг на друга. Различные пути в рамках одного и того же межнейронного соединения могут запускаться различной частотно-временной структурой паттернов сигналов, что приводит к включению или выключению различных генов в нервных клетках и, соответственно, синтезу различных белков. Результатом молекулярных взаимодействий является постоянная трансформация клетки, включая изменение внутреннего химического состава клетки, конфигурации синаптических контактов, дендро-аксональный спраутинг. При этом нервные клетки могут образовывать самые различные аксон-дендритные, аксон-соматические, аксон-аксональные, соматические, дендрит-дендритные, дендрит-соматические и дендрит-аксональные синапсы, часто формируя гломерулы с участием отсеков сразу многих нейронов (Бамбиндра В. П. с соавт., 1988).

Отдельно следует учитывать процессы формирования и миграции нейрцитов в нейросистеме, включая нейрогенез у взрослых организмов и встраивание вновь пролифигированных нейронов в существующие нейросети, а равно процессы апоптоза, по-видимому, необходимого для формирования завершенных архитектур обученных нейросетей. Все эти процессы являются результатом экспрессии пулов генов, от-

ветственных за развитие нервных клеток, процессов эпигенетического регулирования. Пространственная организация объема нейрона, его сомы, дендритов и аксонов, распределение ионных каналов и насосов по площади мембраны оказывают существенное влияние на проведение сигналов. Наконец, можно отметить еще одно обстоятельство. Это наличие разных типов нейронов и других нервных клеток. Задача построения целостной биологической нейросистемы требует наличия отсеков нейрона (сом, дендритов и аксонов) с разными параметрами, и, соответственно, — нейронов различного типа, что мы и наблюдаем на практике. Кроме того, появляется все больше данных об участии глиальных клеток в проведении и обработке сигналов, вплоть до генерирования потенциалов действия астроцитами. В перспективе грань между нейронами и некоторыми видами глиальных клеток может начать представляться не такой резкой, как сейчас.

Все вышеназванные процессы обеспечивают как метаболизм клетки, поддержание ее жизнедеятельности, так и выполнение задачи обработки нейроном сигналов. Серия биохимических реакций, связанных с обработкой сигнала нейроном, включая потенциал действия с определенной частотой, формирование кальциевого микродомена в аксонной терминали, выброс медиатора и его диффузия через синаптическую щель, вызванные постсинаптические потенциалы, синтез новых рецепторов и др. — все эти явления с разной временной продолжительностью обеспечивают развертывание в сопряженных нейронах процесса формирования и консолидации следа памяти. А с различными фазами этого процесса связаны функции нейрона, существенно важные для успешного выполнения им роли основного элемента нейронных сетей, обеспечивающих реализацию различных когнитивных процессов.

Сложность нейрона как объекта моделирования как раз и обуславливает необходимость применения его математических моделей, реализуемых на базе специализированных компьютерных программных и программно-аппаратных комплексов. Особенности предметной области, в том числе наличие постоянной динамики всех упомянутых процессов в нервной клетке, делают малосостоятельными попытки статичной фиксации комплексных представлений о нейроне. В публикациях можно описать существенно важные феномены, касающиеся структуры нейрона и происходящих в нем изменений, но невозможно воспроизвести и проанализировать все ветвящиеся, с многочисленными обратными связями процессы, связанные с обработкой сигнала и обеспе-

чением клеточного метаболизма. Эта задача может решаться только в рамках динамической модели нейрона как сложной системы.

Второй основной причиной, определяющей актуальность развития моделирования нервных клеток, является то, что модель нейрона, искусственный нейрон, является базовым компонентом для построения искусственных нейронных сетей (ИНС). За несколько прошедших десятилетий ИНС стали важным инструментом решения значимых задач в самых различных областях человеческой деятельности. Они активно применяются в управлении техническими устройствами и технической диагностике, в системах распознавания образов, обеспечения безопасности, в экспертно-аналитических системах, прогнозировании и биржевом трейдинге, в обработке естественного языка, а также для решения многих других прикладных задач (см. список дополнит. литературы, 3-6). Но в настоящее время становится очевидно, что возможности большинства существующих моделей нейрона оказываются недостаточными для создания ИНС, способных к решению ряда важных задач, например, таких, как обработка семантики естественного языка. Один из путей решения этой проблемы — разработка биологически правдоподобных моделей нейрона, учитывающих существенно значимые функциональные способности живых нервных клеток к обработке сигналов.

15.2. Понятие модели нейрона

Под *моделью нейрона (нейроподобным элементом, искусственным нейроном)* следует понимать представление исходной структуры живого нейрона и протекающих в нем процессов в форме математических объектов и отношений между ними, при котором структура нейрона и протекающие в нем процессы превращаются в истинные предложения о них. Математические объекты, сопоставляемые при построении модели с исходной структурой и процессами живого нейрона, являются при этом элементами некоторой математической системы, но из всего многообразия свойств нейрона-прототипа при построении модели обычно интересуют лишь те, которые сопоставлены исходным задачам и отношениям данной модели.

Как правило, разработка модели включает в себя несколько этапов. На первом этапе формулируются законы, связывающие основные объекты модели. Этот этап требует широкого знания фактов об организации нейрона и протекающих в нем процессах, глубокого проникновения в их взаимосвязи. На втором этапе путем анализа модели или ее ком-

пьютерной реализации получают выходные данные для их сопоставления с результатами наблюдения нейроцитов-прототипов. На третьем этапе выясняется, соответствует ли разработанная модель нейрону-прототипу и согласуются ли результаты наблюдений за нейронами-прототипами с соответствующими результатами, получаемыми на модели, в пределах точности измерения. На четвертом этапе проводится последующий анализ модели с учетом вновь накопленных знаний о нейрочитах-прототипах. При необходимости проводится модернизация модели.

15.3. Основные этапы развития парадигмы моделирования нейрона

В настоящее время моделирование нервных клеток развивается в рамках таких междисциплинарных научных направлений, как математическая биология и биоинформатика (Mathematical Biology & Bioinformatics), вычислительные нейронауки (Computational Neuroscience), компьютерные науки и др.

Уже сами названия этих научных направлений указывают на два основных источника идей для формирования современной парадигмы моделирования нейроцитов: биология и математика, включающая появляющиеся позднее компьютерные дисциплины. В истории науки эти две ветви формирования представлений о способах моделирования нервных клеток сплетаются между собой, порой ускоряя, а порой и тормозя развитие парадигмы моделирования нейронов. Рассмотрим коротко основные вехи формирования представлений о модели нейрона.

Вначале несколько слов необходимо сказать о ключевых открытиях в *нейробиологии*: именно она формировала основу представлений исследователей о предмете моделирования. Кроме того, именно нейробиологические данные придавали обычно положительный импульс развитию моделей нейронов, выводя из тупика специалистов-информатиков. Подобный процесс мы наблюдаем и сегодня.

Как известно, еще в 1791 году Луиджи Гальвани была обоснована электрическая природа происхождения импульсов в нервной ткани. В 1891 г. Сантьяго Рамон-и-Кахал с помощью метода Гольджи сформулировал принцип динамической поляризации, согласно которому нервные импульсы поступают в клетку по дендритам или телу клетки, но выходят из нейрона только по аксону, а также указал на организацию межнейронных взаимодействий через специализированные со-

единения. Для обозначения таких соединений в 1897 г. Чарлзом Шеррингтоном вводится специальный термин — синапсы.

В 1902 г. немецкий физиолог Джулиус Бернштейн формулирует теорию мембран нервных клеток, в рамках которой выдвигает гипотезу о том, что нервные клетки представляют собой гальванические элементы с потенциалом покоя и неодинаковым распределением ионов в мембране. Он также показал временное изменение проницаемости мембраны при прохождении потенциала действия. Важное значение для развития дальнейших представлений о нейроне имело открытие Гербертом С. Гассером в 1920 г. серийной спайковой природы потенциалов действия в аксоне, а также зависимости параметров потенциалов действия от пространственной геометрии и структуры аксонов.

В 1921 г. Отто Лёви открывает химическую природу синаптической передачи, а в 1926 г., совместно с Эрнстом Навратилом описывает первые нейромедиаторы. В 1922 г. Эдгар Эдриан совместно с Александром Форбсом показывает, что нервные клетки могут генерировать потенциалы действия по принципу «все или ничего» в зависимости от превышения входным импульсом некоторого порога. Позднее Э. Эдриан выясняет, что при одинаковой длительности и амплитуде частота импульсов может зависеть от параметров входного сигнала, неся, в свою очередь, гораздо большую информацию, чем просто сигнал о том, что возбуждение произошло. Позднее, в 1951 г., Джон Эклс открывает вызванные и тормозные постсинаптические потенциалы (ВПСП и ТПСП), а также возможность превращения потенциала действия в отрицательный ТПСП. Совместно с Д. Кумбсом он обнаруживает, что разряд нейрона зависит от арифметической суммы возникающих в нем ТПСП и ВПСП и что каждый нейрон может оказывать тормозное или возбуждающее действие. В 1967 г. Б. Кац описывает в общих чертах химию трансинаптической передачи сигнала.

В 1952 г. в серии статей Андру Филлинг Хаксли и Алан Ходжкин разрабатывают первую математическую модель потенциала действия. Согласно модели Хаксли и Ходжкина, потенциал действия возникает при деполяризации мембраны до некоего порогового уровня. Деполяризация открывает натриевые каналы, ионы натрия устремляются внутрь аксона, и внутренняя поверхность мембраны приобретает положительный заряд. Тогда чувствительные к изменению разности потенциалов калиевые каналы открываются, хотя и более медленно, чем натриевые, а последние со временем закрываются. Ионы калия устремляются из аксона, и внутренняя поверхность мембраны аксона постепенно при-

обретает отрицательный заряд по сравнению с наружной поверхностью. В течение рефракторного периода мембрана гиперполяризуется, а в последующем восстанавливается потенциал покоя за счет работы натрий-калиевого насоса. Модель Хаксли и Ходжкина можно считать первой завершённой математической моделью обработки сигнала в нейроне, причем ее значение тем более велико, что биохимические методы для изучения ионных каналов и насосов были разработаны нейробиологией лишь в 1980-х гг.

Таким образом, уже к 1960-м годам у исследователей сформировались определенные представления о модели электрохимического баланса в нейроне, формировании потенциалов действия и вызванных постсинаптических потенциалов в нем. В свою очередь исследования второй половины 20-го века заложили основу нашего понимания процессов консолидации следа памяти в нейроне, нейрональной пластичности и способности нейрона к обучению под влиянием входной стимуляции, хотя еще в конце XIX - начале XX вв. Вильям Джеймс (William James) постулировал, что мозг постоянно формируется под влиянием жизненного опыта, а в 1920-х гг. Карл Лешли обнаружил, что моторная кора обезьян изменяется каждую неделю.

Первой работой, предложившей модель обучения нейронов на основе синаптической пластичности, стала вышедшая в 1949 г. книга канадского нейрофизиолога Дональда Хэбба «Организация поведения: нейропсихологическая теория». В работе Хэбб предложил модель синапса, который с тех пор стал называться синапсом Хэбба. Хэбб писал: «Предположим, что постоянное или повторяющееся возбуждение вызывает в клетках долговременные изменения, которые это возбуждение еще усиливают. Это предположение можно точно сформулировать следующим правилом: «Если аксон клетки А расположен достаточно близко, чтобы возбудить клетку Б, и постоянно или многократно участвует в активации последней, то в одной или обеих клетках происходят процессы роста или метаболические изменения, в результате которых усиливается активирующее действие клетки А на клетку Б». Согласно наиболее очевидному и правдоподобному предположению о способе усиления возбуждающего действия одной клетки на другую, синаптические соединения разрастаются и увеличивают площадь контакта между пресинаптическим аксоном и постсинаптической клеткой» (Hebb D. O., 1949). Данная модель представляет простую прямую синаптическую связь двух последовательно расположенных нейронов. В своей работе Д. Хэбб опирался на представления И. П. Павлова об

условном рефлексе как временной связи внешнего воздействия с ответной реакцией нервной системы (Павлов И. П., 1996).

Еще одним выводом из теории Хэбба стало правило усиления связи между двумя нейронами третьим. Согласно модели Хэбба, для возбуждения синапса не обязательно, чтобы разряд нейрона Б был следствием разряда нейрона А. Предположим, что с нейроном Б, помимо нейрона А, через синапс связан третий нейрон — В. Причем синапс А на Б еще слаб, а синапс В на Б уже значительно более эффективен. Соответственно, нейрон Б пока может разрядиться при активации нейрона В, но не А. Итак, такая активация происходит. Но в результате усиливается не только синапс между нейронами В и Б, и до того достаточно сильный, чтобы активировать нейрон Б самостоятельно. Одновременно усиливается и слабый синапс между нейроном А и Б. Таким образом, с помощью нейрона В усиливается (обучается) синапс от нейрона А к Б. Через некоторое время синапс нейрона А становится настолько эффективным, что получает возможность в одиночку активировать нейрон Б, даже если не активен нейрон В. Хэбб дополняет эту модель тем предположением, что если импульсы, приходящие к Б от А, не сопровождаются активацией Б, то синапс А к Б ослабевает. Немногим позднее идея синаптической пластичности Хэбба была подтверждена в экспериментах его последователем Э. Руттенбергом.

Несмотря на высказанные рядом ученых предположения, вплоть до 1950-х гг. считалось, в основном, что у взрослых организмов образование новых синапсов невозможно и что, как только заканчивается развитие мозга, связи между нейронами становятся неизменными. Это заблуждение было преодолено благодаря целому ряду блестящих экспериментов различных ученых. Данные этих экспериментов можно разделить на (1) наблюдения изменений под влиянием естественно приобретаемого опыта, на (2) наблюдения результатов искусственной депривации и изменений под влиянием стимулирующих химических соединений.

К первой группе наблюдений изменения постсинаптической мембраны под влиянием естественно приобретаемого опыта, то есть обучения, можно отнести следующие основные эксперименты. В 1950-е гг. Марк Розенцвейг, Эд Беннет и Мэриан Даймонд (Калифорнийский университет в Беркли), а также Вильям Гриноу (Иллинойский университет) показали, что внешняя среда и жизненный опыт влияют на мозг. Они установили, что уже через несколько недель после начала содержания крыс в информационно обогащенной среде их мозг отличался от

мозга крыс, живших в обедненной среде изоляции по ряду характерных признаков. Обычно у животных обогащенной группы кора мозга был заметно толще, в отдельных ее областях увеличивалось количество синапсов и содержание многих ферментов, особенно участвующих в синтезе и расщеплении веществ, передающих сигнал через синапсы.

В течение двух последующих десятилетий ученые показали, что относительно короткие периоды информационного обогащения среды могут вызывать сходные сдвиги даже у взрослых животных. В начале 1960-х гг. шведский исследователь Холгер Хиден зарегистрировал усиление биосинтеза белка и РНК в небольших участках мозга крыс, обученных балансировать на проволоке, а Х. Ю. Маттиес в Магдебурге продемонстрировал усиление синтеза гликопротеидов при различных формах обучения крыс. В 1963 г. Уэсли Дингман и Майкл Спирн из Рочестерского университета доказали, что при подавлении синтеза белка во время обучения животных или в первые часы после его завершения крысы могли освоить задачу, но в случае более позднего тестирования (на следующий день) они вели себя так, как будто совсем не обучались. Позднее Р. Йорк продемонстрировал амнезию у крыс в результате введения им 2-дезоксигалактозы, специфически подавляющей синтез тех гликопротеидов, в которых связаны между собой два сахара — галактоза и фруктоза.

В 1967 г. С. Роуз (Имперский колледж Лондона, затем Открытый университет Великобритании) и Б. Крэгг (Университетский колледж Лондона) в результате эксперимента с импринтингом цыплят обнаружили увеличение числа синапсов, происходящее одновременно с усилением белкового синтеза в одном и том же участке коры, отвечающем на стимуляцию. Подсчитав синапсы в коре, Крэгг обнаружил небольшое, но статистически достоверное увеличение их числа как раз в тот период, когда Роуз отмечал усиление белкового синтеза. Приобретение нового опыта сопровождалось как биохимическими, так и структурными изменениями в зрительной области мозга. В опытах С. Роуза было установлено, что у цыплят с импринтингом после тренировки усиливается биосинтез РНК в крыше мозга и белка, причем чем лучше птенцы научались различать световые сигналы и адекватно реагировать на них, тем больше РНК синтезировалось в крыше переднего мозга. А в начале 1990-х гг. С.Роуз и М.Стюарт в экспериментах по обучению цыплят избеганию повторного клевания горькой бусины выяснили, что через 24 часа после обучения число шипиков на дендритах в соответствующем отделе мозга цыплят увеличивалось на 60%, кроме того, увеличивались размеры шипиков.

Важнейшие данные об организации памяти получила в 1970-80-х гг. исследовательская группа Эрика Кэндела в Нью-Йорке. Кэндел исследовал привыкание на препаратах аплии и показал, что элементом, ответственным за обучение и привыкание, может быть синаптическая связь между сенсорным и моторным нейроном, причем связь эта моносинаптическая, с модуляцией гомосинаптического типа, когда одна клетка воздействует на другую непосредственно путем модификации синапса, образуемого ею на второй клетке. По мнению С. Роуза, открытие Кэнделом механизмов привыкания и сенситизации может служить моделью кратковременной памяти (Роуз С. , 1995). В ходе исследований абдоминального ганглия аплии морфологами Мэри Чен и Крейгом Бэйли из группы Э. Кэндела (Колледж терапевтов и хирургов, Нью-Йорк) в конце 1980-х гг. было выяснено, что при ассоциативном обучении происходят характерные изменения формы и числа синапсов, весьма сходные с наблюдавшимися С. Роузом у обучающихся цыплят. Некоторые из этих изменения носят кратковременный характер, а другие, особенно увеличение числа синапсов, более стойки. Создание устойчивой простой ассоциации связано с образованием множества новых синапсов (Роуз С. , 1995). По недавно полученным данным Фреда Гейджа, дендритные шипики могут менять свою форму в течение нескольких минут.

Вслед за признанием синаптической пластичности обнаружена и пластичность на уровне нейронной сети или области мозга. В 1980-х гг. Майкл Мерзеник (Медицинский центр Калифорнийского университета в Сан-Франциско) выявил, что моторная кора взрослых обезьян может изменяться. В одном из исследований ученые, удалив у обезьяны палец, наблюдали, что участок моторной коры, связанный с ним, начинал получать проекции от нейронов, передающих информацию от соседнего пальца. Похожие данные были получены в 1980-х гг. в результате исследования пациентов, получивших инсульт. Больные, чья двигательная функция нарушена из-за инсульта, так же, как обезьяны с перерезанными нервами руки, смогли снова научиться пользоваться парализованной частью тела. В последующие десятилетия подобные результаты были получены многими исследовательскими коллективами.

Ко второй группе наблюдений изменений под влиянием искусственной депривации можно отнести прежде всего знаменитые эксперименты Д. Хьюбела и Т. Визела (Гарвардская медицинская школа), которые показали утрату зрения у животного с депривированным в течение критического периода развития глазом, а также перераспределение

клеток на обслуживание здорового глаза. Как писал Д. Хьюбелл, «исключите форму, и клетки, в норме отвечающие только на формы, перестанут на них отвечать. Измените относительное положение глаз, и связи, в норме обслуживающие бинокулярные взаимодействия, будут разорваны. Устраните подвижные стимулы вообще или движение в определенном направлении, и соответствующие клетки не будут реагировать»⁹. Выводы Хьюбела и Визела были подтверждены и в экспериментах К. Блейкмора и Дж. Купера, Х. Хирша и Н. Спинели с другими видами депривации (Хьюбел Д., 1990). Основным механизмом изменения «веса» связи является при этом изменение числа рецепторов на постсинаптической мембране. При встраивании дополнительных рецепторов в постсинаптическую мембрану в результате активаций эффективность (вес) связи возрастает, а ослабление связи может происходить за счет выбытия части молекул-рецепторов медиатора из постсинаптической мембраны. Весь этот процесс осуществляется под управлением генетического аппарата нейрона.

В заключение обзора нейробиологических исследований, формирующих современные представления о нейроне как объекте моделирования, упомянем еще о работах американского исследователя Фрэда Гейджа, внесших значительный вклад в открытие нейрогенеза у взрослых организмов (неонейрогенеза). В 1997 г. исследователи из Института Солка под руководством Ф. Х. Гейджа обнаружили, что стареющие мыши, живущие в информационно обогащенной окружающей среде, образуют в три раза больше новых нейронов в гиппокампе, чем контрольные мыши (Press releases The Salk Institute..., April 24, 1997). В 1998 г. Фред Х. Гейдж доказал, что в гиппокампе взрослого человека могут образовываться новые нейроны. В 1999 г. также было обнаружено, что регулярные физические упражнения мышцей в колесе обуславливают образование большего количества новых нейронов, чем образуется в контрольной группе, лишенной таких упражнений (Press releases The Salk Institute..., February 22, 1999). В результате эксперимента было обнаружено, что бегавшие мыши приобретают способность к поддержанию более сильной долговременной потенциации (ДВП). Как отмечает Терренс Седжновский, один из соавторов исследования, «учитывая, что ДВП может быть молекулярной основой формирования долговременных воспоминаний, то, что бегавшие мыши способны к поддержке более сильной ДВП, чем мыши из клеток без колеса, может быть одной из причин того, что они приобретают большие способности к научению». Таким образом, было установлено, что упражнения в беге усиливают

неонейрогенез, обучаемость и ДВП в мозге мышей (Press releases The Salk Institute..., November 08, 1999). В результате проведенных исследований было доказано, что вновь образованные нейроны встраиваются в существующие нейросети, предоставляя мозгу непрерывное пополнение молодыми активными нейронами. Как предполагается, такие новые нейроны могут либо заменять старые или погибшие нейроны, либо использоваться для структурного изменения мозга в целях поддержки обучения, регистрации новых событий и приспособления к новым условиям, обеспечивая большую степень пластичности зрелому мозгу (Press releases The Salk Institute..., February 27, 2002). В 2001 г. было установлено, что нейроны человека могут расти, делиться и специализировать свою форму не только в течение всей жизни, но даже после смерти человека. При этом важнейшее значение имело недавнее открытие фактора роста нейронов *cystatin C*. Важно, что вновь образованные клетки имели способность дифференцироваться в различные типы мозговых клеток: нейроны, астроциты и олигодендроциты (Press releases The Salk Institute..., May 02, 2001). В 2005 г. ученые Института Солка под руководством Ф.Х. Гейджа установили наличие генетического механизма, способного приводить к резкому изменению генетической информации в нервных клетках в результате перемещения с одного места в геноме к другому особых мобильных элементов в ДНК, известных как элементы L1 (Press releases The Salk Institute..., June 14, 2005).

Именно на исследованиях роли экспрессии генов в обработке нейроном сигналов и изменениях клетки в настоящее время сосредоточены усилия большинства научных коллективов нейробиологов. Одним из серьезных результатов в этой области стало обнаружение в начале 1990-х гг. российским исследователем К.В. Анохиным резкого возрастания образования пептидов *c-fos* и *c-jun* в нейроне под влиянием обучения. И именно в этом направлении стоит ждать дальнейших открытий, способных внести существенный вклад в развитие современных моделей нейронов.

Вторым источником идей для формирования парадигм моделирования нейронов становится другая группа научных дисциплин, а именно: *математика, логика и появившиеся позднее компьютерные науки*. Интересно, что идеи, способствовавшие формированию первых моделей нейронов, развиваются в этих дисциплинах независимо от биологии.

Еще в 1673 г. Готфрид Лейбниц разрабатывает систему двоичного исчисления и конструкцию механической вычислительной машины для

обработки *двоичных чисел*. Позднее в работах «Математический анализ логики, или очерк исчисления дедуктивного рассуждения» (1847) и «Исследование законов мышления, на которых основаны математические теории логики и вероятностей» (1854) английский математик и логик Джордж Буль определяет принципы организации операций с множествами на основе двоичной алгебры. В 1936 г. двадцатилетний американский математик и инженер Клод Шеннон высказывает идею о возможности реализации булевой алгебры на основе реальных электрических цепей с реле и переключателями. Наконец, в 1937 г. английский математик Алан Матисон Тьюринг в статье «О вычислимых числах, применительно к проблеме разрешимости» предлагает математическую модель так называемой «Универсальной машины Тьюринга» (УТМ), явившейся первой концепцией вычислительной машины с хранимой в памяти программой. Тьюринг построил модель вычислений, в которой каждый алгоритм разбивался на последовательность простых, элементарных шагов, и показал, что его машина за данный большой, но конечный промежуток времени способна справиться с любым вычислением. Поскольку операции УТМ на каждом такте зависели, в частности, от результата последнего действия, машина выполняла команду условного перехода. Таким образом, смоделированная Тьюрингом машина могла реализовать практически любой алгоритм (Горбатов В. А. с соавт., 2008). На основе идей Тьюринга и с его участием в 1943 г. в Англии был создан первый в мире электронный компьютер. Работы названных исследователей заложили основы систем вычислений на базе двоичной логики, которая оказала существенное влияние на формирование первых формальных моделей нейронов, а равно сделали возможным создание аппаратно-программных комплексов электронно-вычислительной техники, без которых была бы невозможна реализация динамических моделей сложных систем вообще и нейронов в частности.

В том же 1943 г., когда был запущен первый электронный компьютер, происходит еще одно событие, важнейшее для развития парадигм моделирования нейронов. В американском «Бюллетене математической биофизики» выходит совместная статья американского нейропсихолога Уоррена С. Мак-Каллока и талантливого девятнадцатилетнего логика и математика Уолтера Питтса «Логическое исчисление идей, присущее нервной активности» («A Logical Calculus of the Ideas Immanent in Nervous Activity»). В работе предлагается первая формальная модель нейрона и показывается возможность логических рассуждений сети, состоящих из таких нейронов. Сегодня предложенная этими чи-

кагскими исследователями модель нейрона обычно называется нейроном Мак-Каллока и Питтса (МСР). Соавторы так описали свои представления о биологическом нейроне, положенные ими в основу разработанной модели: «Нервная система является сетью нейронов, каждый из которых имеет тело и аксон. Места контакта нейронов, или синапсы, находятся всегда между аксоном одного и телом другого нейрона. В каждый момент времени нейрон имеет известный порог, который должно превзойти раздражение, чтобы вызвать нервный импульс. Все это, если не считать самого факта и момента появления импульса, определено нейроном, а не раздражением. От точки раздражения импульс распространяется по всему нейрону. Скорость распространения импульса по аксону пропорциональна диаметру аксона, тогда как любой нейрон может быть возбужден импульсами, приходящими через достаточное число соседних синапсов в течение латентного периода, который продолжается менее четверти миллисекунды. Наблюдаемая суммация импульсов в более длительных интервалах времени для отдельных нейронов невозможна и эмпирически зависит от структурных свойств сети. Между прибытием импульсов к нейрону и распространением собственного импульса нейрона имеется синаптическая задержка. В начале нервного импульса нейрон абсолютно невозбудим. Затем его возбудимость быстро восстанавливается, достигая в некоторых случаях сверхнормального уровня, после чего она снова становится несколько ниже нормальной, а затем медленно возвращается к нормальному уровню. Частые возбуждения увеличивают понижение порога возбудимости ниже нормального уровня. Торможение есть прекращение или предотвращение активности одной группы нейронов посредством одновременной или предшествующей активности другой группы. Это требует существования синапсов, импульсы через которые тормозят нейрон, возбуждаемый через другие синапсы. Закон нервной активности «все или ничего» достаточен для того, чтобы возбуждение любого нейрона могло быть представлено как некоторое предложение. Физиологические соотношения, существующие при нервной активности, соответствуют, конечно, соотношениям этих предложений. Для каждой реакции любого нейрона имеется соответствующее утверждение некоторого простого предложения. В свою очередь оно влечет или некоторое другое простое предложение, или дизъюнкцию, или конъюнкцию (с отрицанием или без отрицания) аналогичных предложений, согласно с конфигурацией синапсов и порогом данного нейрона» (Мак-Каллок У., Питтс В., 2001). Авторы доказывают несколько теорем,

связанных с реализацией искусственных нейросетей на основе предложенной ими модели нейрона. В частности, они отмечают, что любое временное пропозициональное выражение реализуемо сетью определенного порядка; что облегчение прохождения активности по нейрону (обучение) и временная суммация импульсов могут быть заменены пространственной суммацией (в сети с увеличенным количеством нейронов); что изменяемые синапсы могут быть заменены петлями (обратной связи) и, в частности, нейрон, который становится и остается активным самопроизвольно, может быть аналогичным образом заменен петлей, приводимой в активность посредством одного рецептора в начале активности и тормозимой другим при ее прекращении. Авторы указывают, что «в психологии, как бы она ни определялась, описание сети дало бы все, что может быть достигнуто в этой области», и что «математической биофизике эта теория предоставляет способ строгой символической трактовки известных сетей и легкий метод конструирования гипотетических сетей с требуемыми свойствами». Ниже мы еще остановимся на структуре модели Мак-Каллока и Питтса и ее модификациях. Отметим, что, хотя сегодня мы видим в модели этих авторов большие упрощения, не позволяющие реализовать существенно важные способности нейрона как элемента сетевых когнитивных систем, в истории науки и техники работа этих двух соавторов сыграла огромную роль, породив к жизни целое научно-техническое направление: разработку искусственных нейронных сетей и нейрокомпьютеров.

Анализ сетевых архитектур выходит за рамки вопроса о моделировании нейрона, и мы его опустим. Упомянем лишь, что на основе модели нейрона Мак-Каллока и Питтса были выполнены такие прорывные разработки, как способный к распознаванию образов перцептрон Фрэнка Розенблатта (1958 г.), созданный им же первый нейрокомпьютер Марк-1 (1959 г.), адаптивные сети Б. Уидроу и М. Е. Хоффа (1960 г.), сети с временной задержкой Е. Р. Кайяньело (1961 г.), многослойный перцептрон с алгоритмами обучения с помощью обратного распространения сигнала ошибки Пола Вербоса (1974 г.) и Д. Е. Румельхарта (1986 г.), когнитрон (1975 г.) и неокогнитрон (1980 г.) К. Фукушимы, обучающаяся машина Больцмана, разработанная Г. Е. Хинтоном и Т. Дж. Сейновски (1986 г.), сети с адаптивным резонансом С. Гроссберга (1976 г.), автоассоциативные сети с обратными связями Дж. Хопфилда (1982 г.), самоорганизующиеся карты Тойво Кохонена с нейроном-победителем (1982 г.), сети Б. Коско с двунаправленной ассоциативной памятью, сети Хэмминга, разработанные Р. Липпманом (1987 г.), комбинирован-

ные сети встречного распространения Роберта Хехт-Нильсена (1987 г.) и мн. др. Все эти системы нашли свое применение для решения различных научно-исследовательских, технических и народнохозяйственных задач, они реализованы в многочисленных компьютерных программных и программно-аппаратных комплексах, им посвящена обширная литература (см. список дополнит. литературы, 19-38).

Достаточно сказать, что на сегодня имеются сотни прикладных программных пакетов для моделирования нейронов и разработки нейросетей. К основным из них можно отнести: пакет «NeuroSolutions» корпорации NeuroDimension, пакет «NeuralWorks» корпорации NeuralWare, пакет «Process Advisor» корпорации AI Ware, пакет «NeuroShell» фирмы Word Systems Group, пакет «BrainMaker» Pro фирмы California Scientific SoftWare, пакет «Stanistica Neural Networks» корпорации StatSoft, пакет «Нейроимитатор» российской компании Нейрома-РД, пакет «Нейроконструктор» российской компании ТАСО и мн. др. Укажем, что на протяжении всей истории развития нейросетевых технологий предпринимались попытки аппаратной реализации модели нейрона и нейросетей на их основе. Упомянем в качестве примера, помимо первого нейрокомпьютера Розенблатта, такие разработки, как выпуск японскими фирмами Nihon Denki и Fujitsu первых персональных нейрокомпьютеров Neuro-07 и FMR 50 (1988 г.), разработка первой в мире большой интегральной схемы цифрового нейропроцессора в Таганрогском НИИ МВС под руководством А. В. Каляева (1989 г.), создание М. Маховальд и Р. Дугласом «кремниевого нейрона» (1992 г.), разработка Intel нейрочипа Ni1000, имитирующего работу 1024 нейронов (1994 г.), создание Цюрихским институтом нейроинформатики «кремниевой коры» на основе платы SCX-1, многочисленные реализации моделей нейронов на базе интегральных схем с программируемой логикой (ПЛИС) с помощью языка описания архитектуры (FPGA) и т.д. (Галушкин А. И., 2000).

В апреле 2008 г. сотрудники корпорации Hewlett-Packard заявили о создании принципиально нового пассивного элемента электротехники – мемристора, или резистора с памятью. Наряду с резистором, конденсатором и индуктором, мемристор стал четвертым элементом электротехнической теории цепей. Разработки Hewlett-Packard основывались на предположении о необходимости существования такого элемента, высказанном в 1971 г. Леоном Чуа из университета в Беркли. Созданный в Hewlett-Packard мемристор представляет собой двухстороннюю и двухслойную структуру. Слои из оксида титана зажаты

между двумя металлическими электродами перемычкой. Один слой оксида титана покрыт кислородными вакансиями, что делает его полупроводником, соседний слой этого покрытия не имеет и играет роль изолятора. Сопротивление мемристора постепенно меняется под действием приложенного напряжения, и, таким образом, этот аппаратный элемент приобретает свойство памяти. Компания надеется, что сделанное открытие удастся использовать для создания нового запоминающего устройства — RRAM (resistive random-access memory), имеющего некоторые свойства, напоминающие синаптическую пластичность (Strukov D. V. et. al., 2008).

В заключение этого небольшого обзора еще раз отметим, что здесь упомянуты лишь некоторые основные результаты, заложившие основы современных парадигм моделирования нейрона, которые в равной степени базируются и на других открытиях многих исследователей в различных областях науки.

15.4. Классы моделей нейрона

Тойво Кохонен, описывая развитие нейромоделирования, выделяет три этапа становления модели нейрона. *Первый этап становления моделей нейронов он обозначает как модели без памяти* — это формальный нейрон Мак-Каллока-Питтса. В этих моделях могли добавляться обратные связи, могли применяться различные функции активации (начиная с 1967 г., когда Дж. Д. Кован ввел «сигмоидальную» характеристику и гладкую функцию активации для нейронов). Но все же свойства нейрона и сети, связанные с характером передачи сигнала, предполагались фиксированными. *На втором этапе появляются адаптивные модели нейронов.* В них адаптация и память являются свойствами, которые обусловлены параметрическими изменениями. *Наконец, на третьем этапе, в начале 1980-х годов, ставится вопрос о разработке моделей нейрона с пластичностью.* Т. Кохонен был одним из первых авторов, начавших говорить о необходимости пластичности в модели нейрона. Как он пишет в монографии «Самоорганизующиеся карты», «примерно в 1980 г. у автора возникло ощущение, что модель с адаптивными параметрами межэлементных связей, значения которых могли меняться только иногда и в узком диапазоне, не была достаточно удовлетворительной для охвата всех аспектов самоорганизации... Трудно понять, как следы памяти, формирующиеся в течение краткого промежутка времени, могут сохраняться потом неопределенно долго, если память представляет собой просто интеграл от

сигналов» (Кохонен Т., 2008). В 1993 г. Кохонен предложил некоторые теоретические соображения, связывающие пластичность нейрона со специальными параметрами включенного управления пластичностью (Kohonen T., 1993). Одной из разновидностей искусственных нейросетей с пластичностью стали растущие нейронные сети, в которых нейрон может образовывать или терять новые связи с другими вершинами или даже формироваться или исчезать целиком (см. список дополнит. литературы, 41-42).

В целом классификация этапов и, соответственно, моделей нейронов (так как появление нового класса моделей не означало исчезновения предыдущего) Т. Кохонена представляется весьма обоснованной. К ней можно добавить лишь несколько замечаний. В принципе, адаптивные модели могут рассматриваться как подкласс моделей пусть и с ограниченной, но с пластичностью. Нейрофизиология выделяет на сегодня, как минимум, несколько видов нейропластичности: (1) формирование нервной системы — дифференцировка нейронов, миграция и спраутинг; (2) неонейрогенез у взрослых организмов, в том числе и такой вид пластичности, как пластичность стволовых клеток, их способность дифференцироваться в различные типы клеток (Гомазков О. А., 2006); (3) синаптическая пластичность; (4) регенерация. Мало сомнений в том, что в будущем будут выделены новые виды пластичности нейронов, например, связанные с генетическим регулированием развития клетки. Также большое значение имеет развитие потенциалов во времени.

Следует заметить, что классификация Т. Кохонена строится с позиции конструктора нейросетей, преследующего задачу наиболее удовлетворительно описать такую функцию нейрона, как обработка сигналов, с тем, чтобы использовать полученный нейроподобный элемент для формирования искусственных нейронных сетей, способных к решению полезных когнитивных задач. Но в последние десятилетия с ростом возможностей электронно-вычислительной техники все более актуальной становится задача создания «портретных» моделей нейронов, описывающих не только процессы обработки нейронами сигналов, но и все другие процессы жизнедеятельности клетки, например, внутриклеточный метаболизм. Такие модели получили условное название «электронная клетка», или клетка *in silico*. Первым проектом создания единой модели самовоспроизводящейся живой клетки был начатый в 1996 г. проект E-CELL, начатый М. Томитой, директором Institute for Advanced Biosciences at Keio University (<http://www.e-cell.org/ecell>).

Наиболее амбициозным проектом «портретного» моделирования нейронов в настоящее время является начатая в 2005 г. совместная работа корпорации IBM и Швейцарского федерального технологического института в Лозанне, получившая название Blue Brain Project. В рамках проекта ученые моделируют организацию и взаимодействие примерно 10 тыс. клеток неокортикальной колонки мозга.

Принимая во внимание назначение моделей и степень приближения к моделируемой предметной области (живому нейрону), представляется возможным выделить два основных класса моделей нейронов:

1. *Модели обработки сигналов в нейроне.*
2. *«Портретные» модели нервных клеток.*

При этом первый класс моделей отчетливо делится на:

1.1. *Простые формальные модели нейрона*, берущие свое начало от модели Мак-Каллока и Питтса.

1.2. *Биологически правдоподобные модели обработки сигналов в нейроне.*

При таком делении видна вложенность одного класса или подкласса в «вышестоящие» классы. Так, простая формальная модель нейрона как простого интегратора может быть получена в рамках биологически правдоподобных моделей обработки сигналов в нейроне путем обнуления некоторых параметров. И, соответственно, любые сколь угодно точные модели обработки сигналов нейроном являются лишь частью модели нервной клетки в целом.

Заметим также, что не представляется необходимым выделять типы моделей нейронов по способу их реализации: в виде программного обеспечения или в «железе», в виде аппаратных решений.

Выводы

- Актуальность моделирования нейрона проистекает из двух основных обстоятельств. Во-первых, нейрон является сложной гиперсистемой, его структура и динамика протекающих в нем процессов может быть наиболее эффективно отображена лишь в моделях, реализованных на базе компьютерных программно-аппаратных комплексов. Во-вторых, модель нейрона (нейроподобный элемент) служит основой для построения искусственных нейросетевых интеллектуальных систем, предназначенных для решения широкого круга задач в таких сферах, как управление техническими устройствами, распознавание образов, экспертно-аналитические системы, прогнозирование, обработка естественного языка и других.

- Под моделью нейрона (нейроподобным элементом, искусственным нейроном) понимается представление исходной структуры живого нейрона и протекающих в нем процессов в форме математических объектов и отношений между ними, при котором структура нейрона и протекающие в нем процессы превращаются в истинные предложения о них.

- Моделирование нейрона развивается в рамках таких междисциплинарных научных направлений, как математическая биология и биоинформатика, вычислительные нейронауки, компьютерные науки и др. И хотя парадигмы моделирования нейрона развиваются часто независимо друг от друга в рамках нейробиологии и компьютерных наук, следует признать ведущую роль нейробиологии в формировании наших представлений о нейроне, служащих совершенствованию вновь создаваемых моделей нейронов, в том числе для их использования в искусственных интеллектуальных системах.

- Принимая во внимание назначение моделей и степень приближения к моделируемой предметной области (живому нейрону), представляется возможным выделить два основных класса моделей нейронов: (1) модели обработки сигналов в нейроне и (2) «портретные» модели нервных клеток. При этом первый класс моделей отчетливо делится на (1.1.) простые формальные модели нейрона и (1.2.) биологически правдоподобные модели обработки сигналов в нейроне.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Нейронные сети: история развития теории / Под общ. ред. А. И. Галушкина, Я.З. Цыпкина. М.: ИПРЖР, 2001. 840 с.
2. Кохонен Т. Самоорганизующиеся карты. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2008. 655 с.
3. Галушкин А. И. Нейрокомпьютеры. М.: ИПРЖР, 2000. 528 с.
4. Николлс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. М.: Едиториал УРСС, 2003. 672 с.
5. Савельев А.В. На пути к общей теории нейросетей. К вопросу о сложности // Нейрокомпьютеры: разработка, применение. 2006. № 4-5. С. 4-14.

Дополнительная

1. Бамбиндра В. П., Брагина Т. А., Ионов И. П., Нуртдинов Н. Р. Структура и модели нейронных комплексов головного мозга. Л.: Наука, 1988. С. 22.
2. Терехов В. А., Ефимов Д. В., Тюкин И. Ю. Нейросетевые системы управления. М.: ИПРЖР, 2002. 480 с.

3. Нейроуправляемые конструкции и системы / Под ред. Н. П. Абовского. М.: Радиотехника, 2003. 368 с.
4. Нейрокомпьютеры в системах обработки сигналов / Под ред. Ю. В. Гуляева и А. И. Галушкина. М.: Радиотехника, 2003. 224 с.
5. Нейрокомпьютеры в системах обработки изображений / Под ред. Ю. В. Гуляева и А. И. Галушкина. М.: Радиотехника, 2003. 192 с.
6. Ширяев В. И. Финансовые рынки и нейронные сети. М.: Издательство ЛКИ, 2007. 224 с.
7. Hebb D. O. The Organisation of Behavior: A Neuropsychological Theory. New York: Wiley, 1949. p. 62-63.
8. Павлов И. П. Условный рефлекс // Мозг и психика. М.: Издательство «Институт практической психологии», Воронеж: НПО «МОДЭК», 1996 С. 245.
9. Роуз С. Устройство памяти. От молекул к сознанию. М.: Мир, 1995. С. 250-252.
10. Хьюбел Д. Глаз, мозг, зрение. М.: Мир, 1990. С. 198-225.
11. An Enriched Environment Stimulates An Increase In The Number Of Nerve Cells In Brains Of Older Mice // Press releases The Salk Institute for Biological Studies, April 24, 1997.
12. Running Boosts Number Of Brain Cells, According To New Salk Study // Press releases The Salk Institute for Biological Studies, February 22, 1999.
13. Exercise Makes Mice Smarter, Salk Scientists Demonstrate // Press releases The Salk Institute for Biological Studies, November 08, 1999.
14. Salk Scientists Demonstrate For The First Time That Newly Born Brain Cells Are Functional In The Adult Brain // Press releases The Salk Institute for Biological Studies, February 27, 2002.
15. Neural Progenitor Cells Recovered From Postmortem And Adult Tissue // Press releases The Salk Institute for Biological Studies, May 02, 2001.
16. «Jumping genes» contribute to the uniqueness of individual brains // Press releases The Salk Institute for Biological Studies, June 14, 2005.
17. Горбатов В. А., Горбатов А. В., Горбатова М. В. Теория автоматов. М.: АСТ:Астрель, 2008. С. 60.
18. Мак-Каллок У., Питтс В. Логическое исчисление идей, относящихся к нервной активности // Нейронные сети: история развития теории / Под общ. ред. А. И. Галушкина, Я. З. Цыпкина. М.: ИПРЖР, 2001. С. 5-22.
19. Хайкин С. Нейронные сети: полный курс. М.: Издательский дом «Вильямс», 2006. 1104 с.
20. Круглов В. В., Борисов В. В. Искусственные нейронные сети. Теория и практика. М.: Горячая линия - Телеком, 2000. 382 с.
21. Головкин В. А. Нейронные сети: обучение, организация и применение. М.: ИПРЖР, 2001. 256 с.
22. Омату С., Халид М., Юсоф Р. Нейроуправление и его приложения. М.: ИПРЖР, 2002. 272 с.
23. Галушкин А. И. Нейроматематика. М.: ИПРЖР, 2002. 448 с.

24. Медведев В. С., Потемкин В. Г. Нейронные сети. Matlab 6. М.: Диалог-МИФИ, 2002. 496 с.
25. Зозуля Ю. И. Интеллектуальные нейросистемы. М.: Радиотехника, 2003. 144 с.
26. Люггер Дж. Ф. Искусственный интеллект: стратегии и методы решения сложных проблем. М.: Издательский дом «Вильямс», 2003. 864 с.
27. Калан Р. Основные концепции нейронных сетей. М.: Издательский дом «Вильямс», 2003. 288 с.
28. Оссовский С. Нейронные сети для обработки информации. М.: Финансы и статистика, 2004. 344 с.
29. Тархов Д. А. Нейронные сети. Модели и алгоритмы. М.: Радиотехника, 2005. 256 с.
30. Рутковская Д., Пилинский М., Рутковский Л. Нейронные сети, генетические алгоритмы и нечеткие системы. М.: Горячая линия - Телеком, 2006. 452 с.
31. Толкачев С. Ф. Нейронное программирование диалоговых систем. СПб.: КОРОНА-Век, 2006. 192 с.
32. Редько В. Г. Эволюция, нейронные сети, интеллект: Модели и концепции эволюционной кибернетики. М.: КомКнига, 2006. 224 с.
33. Чубукова И. А. Data Mining. М.: Интернет-университет информационных технологий; БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. 382 с.
34. Барский А. Б. Логические нейронные сети. М.: Интернет-университет информационных технологий; Бином. Лаборатория знаний, 2007. 352 с.
35. Яхьяева Г. Э. Нечеткие множества и нейронные сети. М.: Интернет-университет информационных технологий; Бином. Лаборатория знаний, 2008. 316 с.
36. Комарцова Л. Г., Максимов А. В. Нейрокомпьютеры. М.: Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2004. 400 с.
37. Кирсанов Э. Ю. Нейрокомпьютеры с параллельной архитектурой. М.: ИПРЖР, 2004. 221 с.
38. Аляутдинов М. А., Галушкин А. И., Казанцев П. А., Остапенко Г. П. Нейрокомпьютеры: от программной к аппаратной реализации. М.: Горячая линия - Телеком, 2008. 152 с.
39. Strukov D. B., Snider G. S., Stewart D. R., Williams R. S. The missing memristor found // Nature. 453. pp. 80-83.
40. Kohonen T. Neural Networks. 1993. № 6. p. 895.
41. Назаров А. В., Лоскутов А. И. Нейросетевые алгоритмы прогнозирования и оптимизации систем. СПб.: Наука и техника, 2003. С. 241-243.
42. Яценко В. А., Сорокин Д. Ю. Построение и применение экспертной системы реального времени на основе нейроподобных растущих сетей // Искусственный интеллект. 2001. № 2. С. 692-698.
43. Гомазков О. А. Нейротрофическая регуляция и стволовые клетки мозга. М.: Изд-во «ИКАР», 2006. С. 110.
44. <http://www.e-cell.org/ecell>

Глава 16. ПРОСТЫЕ ФОРМАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ НЕЙРОНА

Идея простой формальной модели нейрона была впервые сформулирована в работе У. С. Мак-Каллока и У. Питтса. В сетях, построенных на основе нейрона Мак-Каллока-Питтса, оказалась возможной реализация всех основных логических функций, что определило большую значимость этой модели для построения искусственных нейронных сетей разного назначения. Позднейшими исследователями был выявлен ряд недостатков модели нейрона Мак-Каллока-Питтса, таких, как отсутствие в ней памяти и основанного на ней обучения, отсутствие модуляции потенциалов и других. Значительная часть этих недостатков была устранена в рамках многочисленных модификаций нейрона Мак-Каллока и Питтса, образовавших целое семейство простых формальных моделей нейрона. В числе моделей этого класса могут быть названы сигмоидальный нейрон, нейрон типа «Адалайн», нейрон типа WTA, нейрон с квадратичным сумматором, Сигма-Пи нейрон, стохастический нейрон, кубический нейрон и мн. др. В то же время все эти модели оставались весьма простыми, в малой степени воспроизводя процедуры обработки сигналов живым нейроном. Как представляется, в силу чрезмерной упрощенности всему классу простых формальных моделей остался присущ ряд недостатков, снижающих возможности данных моделей нейронов как элементов искусственных нейросетевых интеллектуальных систем. К таким недостаткам можно отнести отсутствие в них моделирования каскада явлений, связанных с постепенным формированием следа (фаз) памяти, отсутствие моделирования генетического регулирования развития клетки и ряд других. Попыткой приблизиться к биологически более правдоподобному моделированию стала модель нейрона Хэбба, хотя ее также приходится отнести к классу простых формальных моделей.

16.1. Нейрон Мак-Каллока и Питтса

Исторически первой моделью обработки сигналов в нейроне стала модель Мак-Каллока и Питтса (1943 г.). Согласно этой модели, нейрон получает входные сигналы (x_1, x_2, \dots, x_n) от других нейронов или из внешней среды. Нейрон может иметь теоретически неограниченно большое число таких входов. В местах подразумеваемых синапсов каждая связь имеет свой индивидуальный фиксированный или изменяющийся, перенастраивающийся *синаптический вес* ($\omega_1, \omega_2, \dots, \omega_n$), который используется

в качестве коэффициента преобразования значения входного сигнала. Все полученные сигналы, которые могут быть как положительными (активирующими), так и отрицательными (тормозными), с учетом их индивидуальных весов линейно суммируются в центральном сумматоре (суме) такого нейрона. Как известно, реальный нейрон генерирует результирующий потенциал действия только в том случае, если сумма входных сигналов превысит некоторый пороговый уровень. В простых формальных моделях нейрона также присутствует *пороговый элемент* (x_0), который увеличивает или уменьшает входной сигнал, подаваемый в дальнейшем на функцию активации. Таким образом, порог становится подобным одному из учитываемых входов нейрона. Обычно порог неизменен и, как правило, представляется как некоторое отрицательное число. В ряде производных моделей порог может быть и переменным. После суммирования сигналов и порога значение полученной *суммы* (u) преобразуется с помощью *функции активации* ($\varphi(u)$) данного нейрона, в результате чего рассчитывается значение выходного сигнала нейрона (y). Полученное после преобразования значение выходного сигнала через выходные связи (аксоны) нейрона подается на входы других нейронов или во внешнюю среду (рис. 16.1). Количество выходов теоретически неограниченно, но значение выходного сигнала на каждом выходе, как правило, одинаково. Если в сети последовательно объединены несколько нейронов, то в нейроне, следующем за рассмотренным, все повторяется¹.

Простая формальная модель нейрона представлена на рисунке.

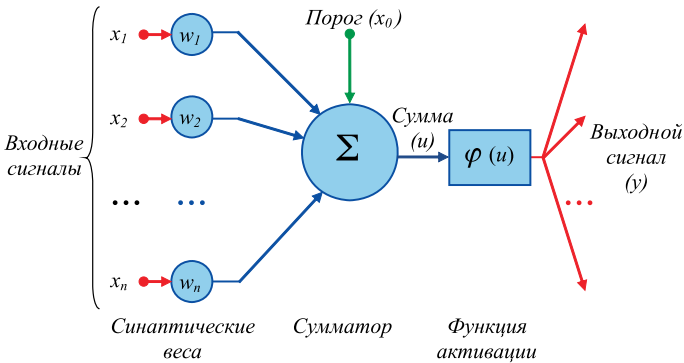


Рис. 16.1. Простая формальная модель нейрона

¹ В сети могут последовательно стыковаться и нейроны различных типов, в этом случае каждый нейрон будет обрабатывать сигнал с учетом особенностей своей модели.

Математически такой нейрон представляет собой взвешенный сумматор, единственное значение выхода которого определяется через его входы и матрицу весов. Математическая простая формальная модель нейрона может быть представлена в виде функции:

$$y = f\left(\sum_{i=1}^n w_i x_i + w_0 x_0\right)$$

где x_i и w_i — соответственно сигналы на входах нейрона и веса входов, x_0 — значение порога нейрона и соответствующий ему вес w_0 . Обучение подобного нейрона состоит в таком подборе весов, чтобы выходной сигнал нейрона совпадал с заданным значением. Эту модель нейрона в литературе обычно называют *нейроном Мак-Каллока и Питтса*, отдавая дань уважения прорывной работе двух ученых (Хайкин С., 2006, с. 45).

В модели Мак-Каллока и Питтса использовалась одноступенчатая функция активации, в соответствии с которой нейрон мог генерировать выходной сигнал только по принципу «все или ничего» с определенным значением, например, со значением 1 при превышении порога нейрона или не генерировать сигнал, выдавать значение 0 или -1, если сумма входных сигналов не превысила порог (рис. 16.2). Позднее стали применяться другие линейные и нелинейные функции активации, что привело к формированию модификаций простых формальных моделей нейрона (рис. 16.3).

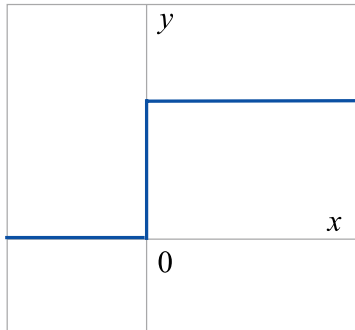


Рис. 16.2. Пороговая одноступенчатая функция активации.

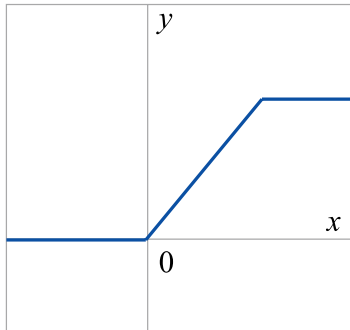


Рис. 16.3. Линейная функция активации с насыщением.

Следует отметить, что приведенная схема несколько модифицирует непосредственные высказывания Мак-Каллока и Питтса. Например, авторы не говорят в своей работе о синаптических весах, предполагая, по сути, прямую суммацию входных сигналов: активирующего (+1) и тор-

мозного (-1), а также допуская отсутствие сигнала на входе (0). Но авторы предполагают понижение и повышение порога, а также указывают на важное значение остаточных потенциалов в нейроне, когда пишут: «Мы рассматриваем облегчение (фасилитацию) и утомление как зависящее от непрерывных изменений порога, связанных с электрическими и химическими переменными, такими, как остаточные потенциалы и концентрации ионов» (Мак-Каллок У., Питтс В., 2001, с. 7). Кроме того, они высказывают блестящее предположение о модификации синапсов: «Предположим, что некоторые окончания аксонов не могут сначала возбуждать следующий нейрон, но если в какой-то момент времени нейрон возбуждается одновременно с этими окончаниями, то они превращаются в обычные синапсы, способные в дальнейшем возбуждать нейрон» (Мак-Каллок У., Питтс В., 2001, с. 15). В этом высказывании мы видим и описание механизма обучения, который позднее стал более известен как один из принципов Хэбба, и предугадание формирования пропускной способности синаптических мембран в результате синтеза новых рецепторов под влиянием прохождения сигнала (обучения).

Строго говоря, Мак-Калок и Питтс в основу своей модели нейрона положили следующие допущения:

1. Активность нейрона удовлетворяет принципу «все или ничего».
2. Возбуждению нейрона должен предшествовать латентный период накопления возбуждений определенного фиксированного числа синапсов, причем это число не зависит от предыдущей активности и от расположения синапсов на нейроне.
3. Единственным запаздыванием в нервной системе, имеющим значение, является синаптическая задержка.
4. Активность какого-либо тормозящего синапса абсолютно исключает возбуждение данного нейрона в рассматриваемый период времени (правда, авторы оговорили, что возбуждение тормозящего синапса не исключает абсолютно возбуждения нейрона, но лишь увеличивает его порог, так что для возбуждения нейрона требуется одновременное возбуждение большего числа возбуждающих синапсов).
5. С течением времени структура сети не изменяется (Мак-Каллок У., Питтс В., 2001, с. 8).

Мак-Каллок и Питтс подчеркнули, что не смешивают предложенную ими формальную модель нейрона с реальными процессами в живом нейроне. Более того, они отмечают важные особенности биологического нейрона, которые оставляют за рамками своей модели. Так, авторы отмечают две существующие в тот период трудности в интер-

претации функционирования нейрона: во-первых, это свойственные нейрону явления фасилитации и утомления, а во-вторых, это способность нейрона к обучению, «при котором одновременные активности в предшествующее время изменили сеть так, что стимул, прежде бывший недостаточным, становится теперь достаточным». Выходом из этих трудностей, по мнению исследователей, являлась та возможность, при которой «мы можем сети, подверженные обоим изменениям, заменить эквивалентными фиктивными сетями, составленными из нейронов с неизменяемыми связями и порогами». То есть Мак-Каллок и Питтс решили, что есть возможность представить значительно более сложный реальный биологический нейрон как сеть из большего числа более простых формальных нейронов.

16.2. Возможности простой формальной модели нейрона

Мак-Каллок и Питтс справедливо указали, что в сети, состоящей из необходимого числа определенным образом соединенных и настроенных простых формальных нейронов, можно реализовать любое логическое суждение и любое сочетание этих суждений (рис. 16.4). В своем выводе они опирались на установленную возможность реализации такими сетями основных логических функций. Этим качеством нейроны Мак-Каллока и Питтса во многом напоминали электронные пороговые элементы, на основе которых позднее были построены компьютеры.

Мак-Каллок и Питтс впервые указали на огромное значение нейронных сетей, в т.ч. искусственных, для решения интеллектуальных задач. В этом они были, безусловно, правы: нейросети действительно являются наиболее эффективным когнитивным инструментом, так как позволяют сформировать любые наборы объектов и обеспечить любое сочетание их влияний друг на друга. Как следствие, любая интеллектуальная задача решается сетевыми средствами. Кроме того, любые проблемы, возникающие при разработке сетевых архитектур, решаются сетевыми средствами. Интеллект — это сеть. Разработанная Мак-Каллоком и Питтсом модель нейрона и ее модификации послужили основой для создания большого числа нейросетевых архитектур, нашедших свое применение в решении большого спектра научных и народнохозяйственных задач.

Все эти замечания могут считаться верными, но все же при одном условии. И сам моделируемый нейрон должен стать существенно более усложненным. В модели нейрона Мак-Каллока и Питтса позднейшими исследователями был выявлен ряд недостатков. В первую очередь к их числу были отнесены:

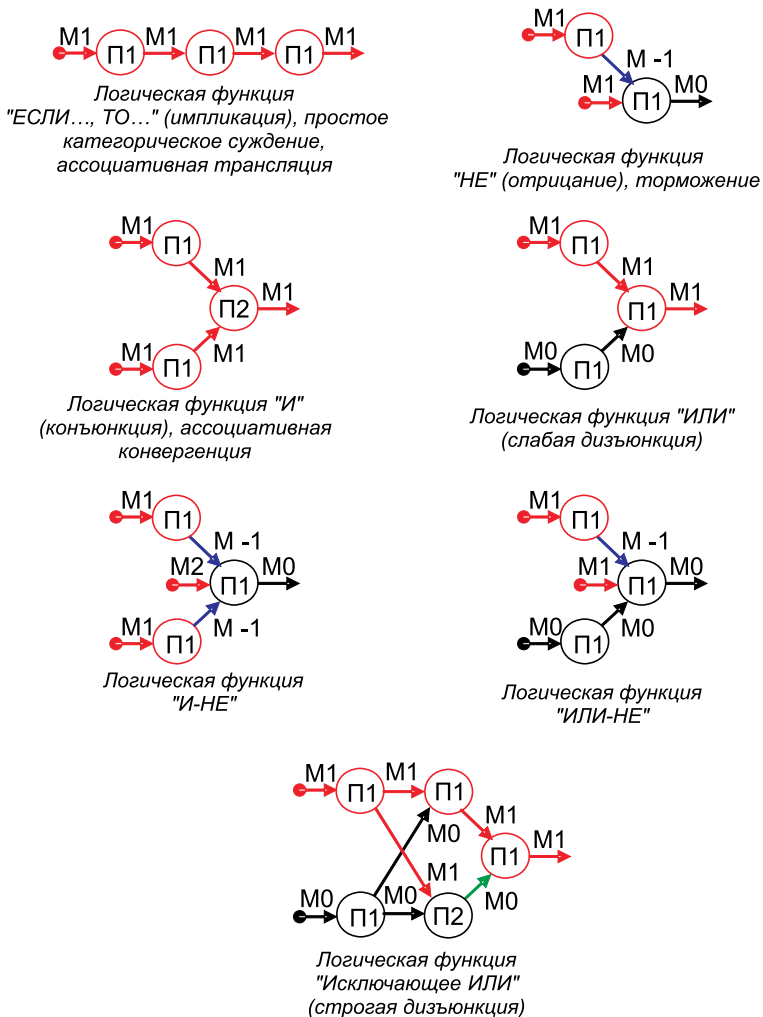


Рис. 16.4. Реализация основных логических функций на простой формальной модели Мак-Каллока и Питтса. В кружках показано значение порогов нейронов. Рядом со стрелками показано значение входного сигнала с учетом его веса (количество медиатора). Красным обозначены активные положительные связи, синим — активные тормозящие (с отрицательными значениями входного сигнала), черным — отсутствие активности положительной связи, зеленым — отсутствие активности тормозящей связи. Расположенные слева нейроны активируются на такт раньше, чем те, что расположены правее.

— отсутствие появления и сохранения изменений нейрона под влиянием входной стимуляции. По сути дела, в модели Мак-Каллока и Питтса отсутствовало такое важнейшее свойство нейрона, как память и основанное на ней обучение, в ней также отсутствовали любые виды пластичности нейронов и нейросетей;

— отсутствие каких-либо видов модуляции потенциалов по их величине, частоте или продолжительности. Жесткая пороговая логика приводила к невозможности решения ряда задач, например, часто не позволяла оптимизировать точность классификации образов;

— отсутствие математических алгоритмов оптимального подбора весов.

16.3. Модификации простой формальной модели нейрона

Необходимость справиться с недостатками, присущими простой формальной модели нейрона, привела к появлению ряда ее модификаций (многие эти модификации вовсе не становились биологически правдоподобными). Основными модификациями нейрона Мак-Каллока и Питтса стали следующие простые формальные модели нейронов.

Сигмоидальный нейрон. Структура сигмоидального нейрона подобна модели Мак-Каллока-Питтса, но функция активации в нем является непрерывной и может быть выражена в виде сигмоидальной униполярной или биполярной функции (рис 16.5 и 16.6). Униполярная функция обычно представляется формулой:

$$f(x) = 1/(1+\exp(-\beta x))$$

Биполярная функция имеет вид:

$$f(x) = \tanh(\beta x)$$

Важным свойством сигмоидальной функции является ее дифференцируемость. Применение непрерывной функции активации позволяет использовать при обучении градиентные методы оптимизации. Помимо сигмоидальной, в качестве функции активации в простой формальной модели нейрона-сумматора могут применяться и другие функции, такие, как *логистическая, гиперболический тангенс, радиально-базисная функция передачи, экспонента, тригонометрический синус, модульная функция* и другие (см.: Дополнительная литература, 1).

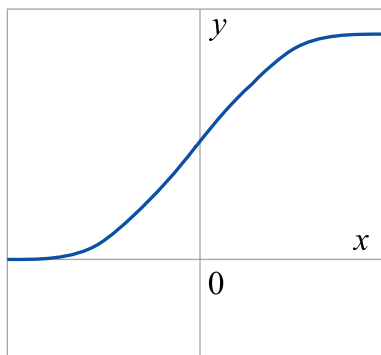


Рис. 16.5. Сигмоидальная униполярная функция активации.

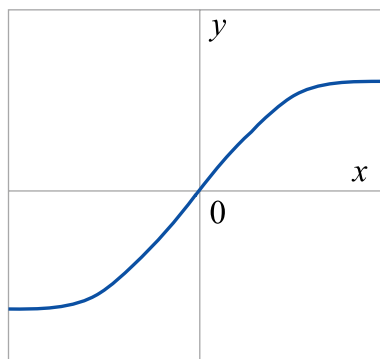


Рис. 16.6. Сигмоидальная биполярная функция активации.

Нейрон типа «Адалайн». Модель нейрона «Адалайн» (от ADaptive LInear Neuron — адаптивный линейный нейрон, в ряде переводов обозначен как «Адалин») была предложена Бернардом Уидроу и М. Е. Хоффом в работе 1960 г. (Уидроу Б., Хофф М. Е., 2001, с. 58-73). Основной сутью этой модели стала разработка итеративного метода для нахождения наилучших весов связей.

Входные и, соответственно, выходные сигналы в модели нейрона «Адалайн» могут принимать значение +1 и -1. Сумматор формирует линейную комбинацию входных сигналов. Уровень порога определялся установкой a_0 , вход которой постоянно связан с источником +1. При изменении a_0 меняется постоянная, добавляемая к линейной комбинации

ции входных сигналов. Веса при этом соответствовали коэффициентам усиления и могли принимать как положительные, так и отрицательные значения (Галушкин А. И., 2000, с. 95-96). Значения коэффициентов усиления устанавливались в процессе обучения с помощью включенного в модель адаптивного вычислительного модуля — путем адаптивного подбора, который осуществляется в процессе минимизации квадратичной ошибки, определяемой как:

$$E(w) = e^2/2 = [d - (\sum_{i=0}^n w_i x_i)]^2/2$$

С учетом дифференцируемости целевой функции в данном случае может быть применен алгоритм градиентного обучения (см.: Дополнительная литература, 2).

Нейрон «Адалайн» стал, по сути, первой динамической моделью постоянно изменяющегося нейрона.

Нейрон типа WTA. Нейрон типа WTA (от Winner Takes All — «Победитель получает все») имеет входной модуль в виде адаптивного сумматора. Выходной сигнал i -го сумматора определяется как:

По результатам сравнения сигналов u_i , $I = 1, 2, \dots, n$ отдельных ней-

$$u_i = \sum_{j=0}^N w_{ij} x_j$$

ронов победителем признается нейрон, у которого u_i оказался наибольшим. Нейрон-победитель имеет выходной сигнал +1, а проигравшие — 0. Для обучения нейронов WTA не требуется внешний учитель. Перед началом работы системы весовые коэффициенты w_{ij} устанавливаются случайным образом, нормализуясь относительно 1 по формуле:

$$w_{ij} \leftarrow w_{ij} / (w_{i1}^2 + w_{i2}^2 + \dots + w_{in}^2)^{1/2}.$$

Победитель этапа определяется после подачи входного вектора x , компоненты которого нормализованы как:

$$x_{ij} \leftarrow x_{ij} / (x_{i1}^2 + x_{i2}^2 + \dots + x_{in}^2)^{1/2}.$$

Победитель переходит в состояние 1, что позволяет произвести уточнение весов его входных линий w_{ij} по правилу:

$$w_{ij}(t+1) = w_{ij}(t) + \alpha [x - w_{ij}(t)]$$

Проигравшие нейроны формируют на своих выходах состояние 0, что прекращает процесс уточнения их весовых коэффициентов. Вы-

ходной сигнал i -го нейрона может быть описан векторным отношением $u_i = w_i^T X = \|w_i\| \|x\| \cos\varphi_i$.

Поскольку $\|w_i\| = \|x\| = 1$, значение u_i определяется углом между векторами x и w_i , $u_i = \cos\varphi_i$. Поэтому победителем оказывается нейрон, вектор весов которого оказывается наиболее близким текущему обучающему вектору x . Соответственно результатом победы нейрона становится его обучение на основе приближения значений весовых коэффициентов к значению текущего обучающего вектора x .

Сети, построенные на основе нейронов WTA, являются сетями с *конкуренцией между нейронами*. Конкуренция обеспечивает самоорганизацию процесса обучения, при которой отпадает потребность во внешнем учителе. В результате уточнения весов при предъявлении группы близких по значениям входных векторов победителем оказывается один и тот же нейрон (см.: Дополнительная литература, 3).

Помимо названных могут быть упомянуты такие модификации простой формальной модели, как: **Паде-нейрон** (вычисляет произвольную дробно-линейную функцию вектора x и может использоваться как обобщение нейрона типа «адалайн» в тех случаях, когда линейных функций становится недостаточно, в частности, в задачах интерполяции эмпирических зависимостей); **Нейрон с квадратичным сумматором** (может вычислять произвольный полином второго порядка от вектора входных сигналов, являясь наилучшим классификатором для многомерных нормальных распределений); **Сигма-Пи нейрон** (является обобщением нейрона с линейной и квадратичной функциями на случай представления функции активации u полиномом степени N , где N — число входов нейрона); **Стохастический нейрон** (в котором значение выходного сигнала нейрона зависит не только от взвешенной суммы входных сигналов, но и от некоторой случайной переменной, значения которой выбираются при каждой реализации из интервала от 0 до 1. В стохастической модели выходной сигнал принимает значения +1 и -1 с некоторой вероятностью).

Еще одной моделью нейрона с большими возможностями (хотя и не биологически правдоподобной) стал так называемый **кубический нейрон**, который обучается путем изменения содержимого ячейки его памяти. Алгоритм обучения строит так называемое разбиение Вороного, при котором значение в ячейке определяется значением в ближайшем центре, а ячейки, равноудаленные от центров, остаются установленными в ноль. Кубические нейроны допускают большую функциональность и позволяют решать те же задачи при меньшем количестве модулей (см.: Дополнительная литература, 3).

Попытка создания модели нейрона, способного к самообучению, привела к созданию **нейрона Хебба**, который является, в определенной степени, «переходной формой» к биологически правдоподобным моделям обработки сигналов в нейроне.

В основе модели нейрона Хебба лежит выдвинутое этим ученым предположение о том, что чем больше сигналов проходит через синаптическую связь между нейронами, которые приводят к активации нейрона-мишени, тем более эффективной (потенцированной) становится эта связь. По своей структуре нейрон Хебба соответствует простой формальной модели нейрона. А вот математическая модель нейрона Хебба дополнена правилом, согласно которому вес w_i связи изменяется пропорционально произведению ее входного сигнала и выходного сигнала нейрона в целом:

$$\Delta w_i = \alpha w_i y,$$

где α есть коэффициент обучения, принимающий значения от 0 до 1, а y — выход нейрона в целом. Такая модель нейрона может обучаться без учителя — в зависимости от первоначально установленных параметров и текущих параметров входного сигнала. В случае, если требуется обучение с учителем, в данной модели вместо выходного сигнала y используется ожидаемая от этого нейрона реакция d . В этом случае правило Хебба записывается в виде:

$$\Delta w_i = \alpha w_i d$$

На каждом такте работы нейрона Хебба (в каждом цикле обучения) происходит суммирование текущего значения веса и его приращения Δw_i :

$$w_i(t+1) = w_i(t) + \Delta w_i$$

Из формулы видно, что в модели нейрона Хебба веса нейрона могут принимать произвольные значения. Для того чтобы предотвратить появление чрезмерных значений, в модели Хебба может быть использован коэффициент забывания γ , который обычно определяется как некоторый процент от значения коэффициента обучения α (например, в интервале от 0 до 1) и на значение которого уменьшается текущий вес связи:

$$w_i(t+1) = w_i(t)(1-\gamma) + \Delta w_i \quad (\text{см.: Дополнительная литература, 4}).$$

Модель нейрона Хебба является несколько более биологически реалистичной, чем рассмотренные выше модели. К ее главным особенностям можно отнести появление в модели сохраняемых динами-

ческих изменений весов связей под влиянием статистики прохождения активности — памяти и способности к обучению и самообучению. Причем каждая связь может обучаться индивидуально, что дает дополнительную степень свободы при проектировании нейронных сетей, основанных на нейроне Хэбба. Кроме того, можно заметить, что внесение небольших модификаций в модель может позволить не только увеличивать веса связей, если входной сигнал сопровождался активацией нейрона-мишени, но и уменьшать эти веса, если потенциала действия нейрона-мишени не последовало после поступления входного сигнала по данной связи. Естественно, что, как и в других простых формальных моделях, в нейроне Хэбба может моделироваться влияние как положительных, так и отрицательных (тормозящих) медиаторов.

Хотя с появлением модели нейрона Хэбба у проектировщиков искусственных нейросетей появились новые возможности, как представляется, они еще многократно увеличиваются при дальнейшем приближении модели обработки сигналов нейроном к биологическому прототипу путем более детального математического моделирования процессов, происходящих в живом нейроне.

16.4. Ограничения простой формальной модели нейрона

Моделирование обработки сигналов в нейроне направлено на достижение двух основных целей:

- 1) моделирование с целью лучшего понимания процессов, происходящих в нейроне-прототипе;
- 2) моделирование с целью использования воспроизведенных процессов обработки сигналов в нейроне для создания искусственных интеллектуальных систем.

Критерием качества моделей, направленных на достижение первой цели, является максимально точное приближение к отображению процессов, протекающих в живом нейроне. Эта задача решается созданием «портретных» моделей нервной клетки.

Критерием совершенства и оценки ограничений моделей нейронов, предназначенных для достижения второй цели, является возможность построения на их основе искусственных нейросетей, способных успешно решать поставленные перед ними прикладные задачи с учетом ресурсоемкости и реализуемости на базе программно-аппаратных комплексов. Таким образом, данный критерий привязан к содержанию задач, поставленных перед нейросетями. Это показывает, что уже созданные

модели нейронов, в том числе простые формальные модели, смогут всегда с успехом применяться для решения того ряда задач, с которыми такие модели справляются (распознавание, некоторые виды прогнозирования, системы технического управления и т.д.). В то же время постановка задач более высокого уровня повышает требования к базовой модели нейрона, выявляет ограничения и неоптимальность простых формальных моделей нейрона.

Укажем здесь на некоторые ограничения простых формальных моделей нейрона, имея в виду, в качестве примера, задачу обработки высказываний на естественном языке.

Отсутствие в простых формальных моделях нейрона моделирования цикла явлений, связанных с постепенным формированием следа памяти (каскада фаз формирования памяти). Наиболее серьезным ограничением всех простых формальных моделей нейрона представляется отсутствие в них моделирования развивающегося во времени биохимического каскада событий, связанных с формированием памяти. Как известно, в реальном нейроне формирование следа памяти включает в себя целую совокупность последовательно развивающихся и обуславливающих друг друга явлений, включающих в себя как формирование потенциалов в аксонных окончаниях и дендритах клетки (с определенным временем жизни), так и структурные изменения клетки в результате синтеза новых белков под управлением генетического аппарата нейрона, запускаемого паттернами входных сигналов. К таким структурным изменениям в первую очередь следует отнести синтез новых рецепторов медиаторов и их встраивание в постсинаптические мембраны, а равно и структурные изменения бутона аксонной терминали нейрона, с которого приходит сигнал. По всей видимости, с каждой из фаз формирования памяти в нейроне связаны важные когнитивные способности сети в целом. Для иллюстрации этих положений приведем пример с обработкой контекстуального значения слова.

Пример 1. Предположим, что искусственная нейросеть должна определить значение слова «мишка» в прочитанном тексте. В сети есть соответствующий нейрон-маркер (вершина), активирующийся при вводе сочетания звуков или букв, составляющих данное слово (т.е. афферентно инвариантный нейрон; в нейробиологии введено полшуугливое название для таких нейронов — «нейроны моей бабушки»). Под «определением значения» будем иметь в виду активацию нейроном-маркером данного семантического значения («мишка») других нейронов, связанных с ним в результате обучения и являющихся маркерами слов,

несущих дополнительную информацию об определяемом слове. Ясно, что у слова «мишка» могут быть разные значения: это может быть зверь, конфета, игрушка, имя друга, имя другого человека и т.д. Значение словоупотребления может быть понято из контекста. А контекст поступает в сеть до или после употребления слова «мишка». Соответственно, в нейроне и межнейронных связях должен присутствовать не только аппарат долговременной памяти, ассоциирующий вершины слова и его значения, но и аппарат среднесрочных форм памяти, обеспечивающий понимание контекстуального значения слова. Статистика предъявлений в данном случае не самый совершенный помощник: простой формальный нейрон Хэбба мог бы активировать то значение слова «мишка», которое наиболее часто предъявлялось сети. Разумеется, нет никаких гарантий правильности такого определения значения.

Пример 2. Системе многократно предъявлялось некоторое многозначное слово и одна из его дефиниций. Затем системе однократно предъявляется это же слово с его второй дефиницией, после чего это же слово во втором значении используется в диалоге с сетью. Система должна правильно активировать второй вариант дефиниции слова.

Пример 3. Предположим, что полносвязной сети семантических вершин, построенной на базе простых нейронов, предъявлено несколько математических примеров типа « $1+2=3$ », « $1+3=4$ » и т.д. При вводе запроса « $1+2=$ » такая сеть может выдать и «3» и «4», так как вершина « $=$ » имеет теперь обученные связи с обеими этими вершинами. Ясно, что сеть должна принять во внимание всю полную длину введенного основания, чтобы дать правильный ответ (рис 16.7.).



Рис. 16.7. Пример сочетания ассоциативной трансляции и ассоциативной конвергенции по типу «семантического многоугольника», обеспечивающего активацию нейрона-мишени (нахождение целевой ассоциации) по полному введенному семантическому основанию с переменной длиной. При последовательном перемещении активности с нейрона на нейрон при такой архитектуре требуется сохранение потенциалов в межнейронных связях на протяжении нескольких тактов работы системы — в терминологии Мак-Каллока и Питтса — «временной суммации». Здесь показана последовательность нейронов с увеличивающимся порогом. На практике различие порогов может быть заменено внешней управляющей нейронной разверткой с возрастающим торможением.

Как мы видим, все эти три примера по сути являются одним и тем же, описывая необходимую способность системы к определению контекстуального значения слова.

Разумеется, эти примеры сами по себе еще не указывают на принципиальную непригодность формальной модели нейрона для реализации сетей, умеющих различать контекст. Для того чтобы решить эту задачу, можно вспомнить положение Мак-Каллока и Питтса о том, что временную суммацию потенциалов можно заменить пространственной суммацией, реализуемой с помощью соответствующей структуры сети.

Мы можем получить успешное решение задачи определения контекстуального значения слова и вышеприведенных математических примеров на основе простой формальной модели нейрона в том случае, если обеспечим перевод активности с ранее активированных вершин в сетевые локусы с аналогичной внутренней структурой, выполняющие роль буфера памяти (в компьютерной терминологии) (рис 16.8). Тогда на соответствующем такте работы сети они внесут свой вклад в активацию «правильной» целевой ассоциации, соответствующей введенной последовательности вершины-мишени в основном ассоциативном локусе. Подобная архитектура может обеспечить и позиционную чувствительность, и понимание значения по контексту, хотя и включит в себя число сетевых локусов, кратно увеличенное пропорционально числу объектов, которые надо принять во внимание для вывода (здесь мы пока считаем, что система ветвления ассоциаций отсутствует, а также опустим вопрос о критериях определения этого числа). Соответственно при вводе запросов типа «1+2=» и «1+3=» такая сеть из нескольких связанных между собой полносвязных модулей правильно выведет «3» в первом случае, «4» во втором и т.п. Также понятно, что при вводе запроса «1+» после вышеописанного обучения система выведет нечто типа высказывания «23=34» (не будем здесь рассматривать проблему циклов в полносвязной сети — она вполне решаема в рамках сетевой архитектуры). Другое дело, что сеть по результатам своего «размышления» запомнит этот вывод, и теперь и после ввода запроса «1+2=», и после ввода запроса «1+3=» в обоих случаях выведет и «3» и «4», что отразит результаты ее самообучения при самостоятельном продолжении ассоциирования. Эту ситуацию можно определить как проблему корректного продолжения ассоциативной трансляции с учетом полной переменной длины введенного семантического основания при наличии ветвей внутри введенного основания (или ошибку в результате логического вывода на основе комбинации из связей, обученных при их предъявлении в составе разных высказываний).

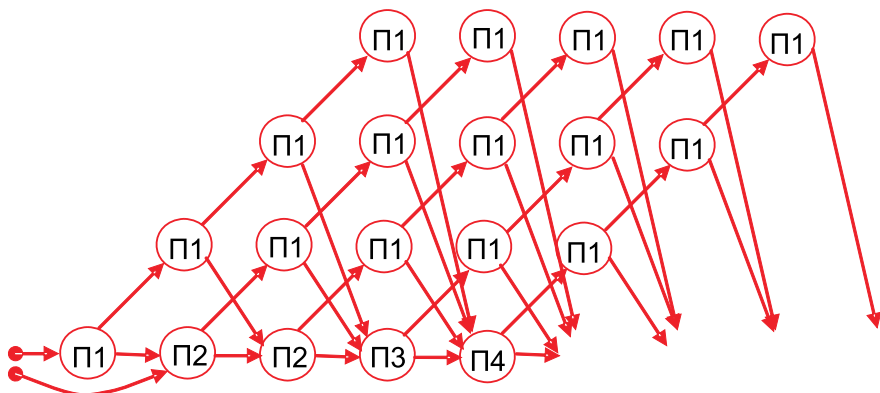


Рис. 16.8. Мак-Каллок и Питтс исходили из того, что временная суммация может быть заменена пространственной суммацией. На рисунке показано, как будет выглядеть сеть, представленная на предыдущем рисунке, если она будет построена на основе простой формальной модели нейрона. Из-за появления сетевых локусов-буферов кратно увеличивается размер сети. Предполагается, что нейроны, изображенные правее, работают на такт позднее.

На первый взгляд, для сети, построенной на простых формальных нейронах, есть выходы и из этой ситуации. Причем несколько.

Во-первых, проблему неправильно запомненного вывода при самостоятельном ассоциировании системы после ввода общего фрагмента нескольких запомненных семантических оснований можно решить путем ввода обучающего отрицания, то есть торможения, когда неправильный вывод ассоциируется с тормозящим центром указанием внешнего учителя или при самостоятельном чтении сетью текстов, прямо указывающих на ошибку одного из выводов. В принципе не приходится отрицать необходимость подобного аппарата: ведь вполне понятна полезность указания на ошибку в процессе обучения. Но система, построенная только при таком решении, утрачивает способность к правильному собственному ассоциативному выводу без дополнительного обучения, а в случае обучения с учителем диалог с такой системой требует постоянного указания на ошибки.

Во-вторых, можно добавить в сетевую архитектуру аппарат ветвления ассоциаций. Он может быть построен различными способами. Для нашего рассуждения особенности сетевых архитектур не представляют большого интереса. Суть аппарата ветвления заключается в том, что при появлении ассоциативной дивергенции, ветвей

ассоциации, основание вновь образованных ветвей вместе с предшествующим началу ветвей ассоциативным основанием перемещается в отдельные сетевые локусы, гомологичные первоначальному, где и продолжается дальнейшее ассоциирование по полному введенному основанию (также при участии аппарата буферов для сохранения активности ранее введенного основания, теперь уже в локусе для каждой ветви, что еще на соответствующий порядок увеличивает объем сети). Но, помимо резкого роста объема сети, более серьезной проблемой теперь становится то, что ассоциирование системы продолжается в различных, расщепленных локусах, так как если мы их объединим, то вновь получим все те проблемы, которые пытались решить. Локусы ветвления можно применить при организации вывода системы, но при организации самостоятельного ассоциирования системы они малопримемлемы: ведь семантика оказывается зависимой от места ее обработки, когда новые ассоциативные связи появляются в различных, не связанных между собой локусах. Конечно, можно ввести специальные процедурные нейроны, связи с которыми введенного основания также потенцируются и которые после такой потенциации начинают выполнять роль управляющей развертки, направляя ветви введенного основания в тот локус, в котором они уже обрабатывались. Это даст системе возможность завершать заученные ассоциации по введенному основанию даже при ветвлении. Но использовать фрагменты ассоциативных последовательностей, полученных в одном локусе, для выводов, совершаемых в другом локусе (например, для аналогий), такая система уже не сможет: основной ассоциативный континуум знаний системы оказывается расщепленным (рис 16.9). А это уже серьезный недостаток сетевой архитектуры, построенной на простой формальной модели нейрона без временной динамики потенциалов.

Таким образом, отсутствие в модели нейрона модели каскада памяти приводит к росту размерности создаваемых искусственных нейросетей при снижении их когнитивных способностей. Избежать кратного увеличения размера сети, расщепления континуума знаний системы и обеспечить ее корректное самообучение мы можем, пойдя совершенно другим путем — путем биологически более реалистичного моделирования нейрона, который имеет значительно более развитый аппарат обработки сигналов, нежели простая формальная модель нейрона.

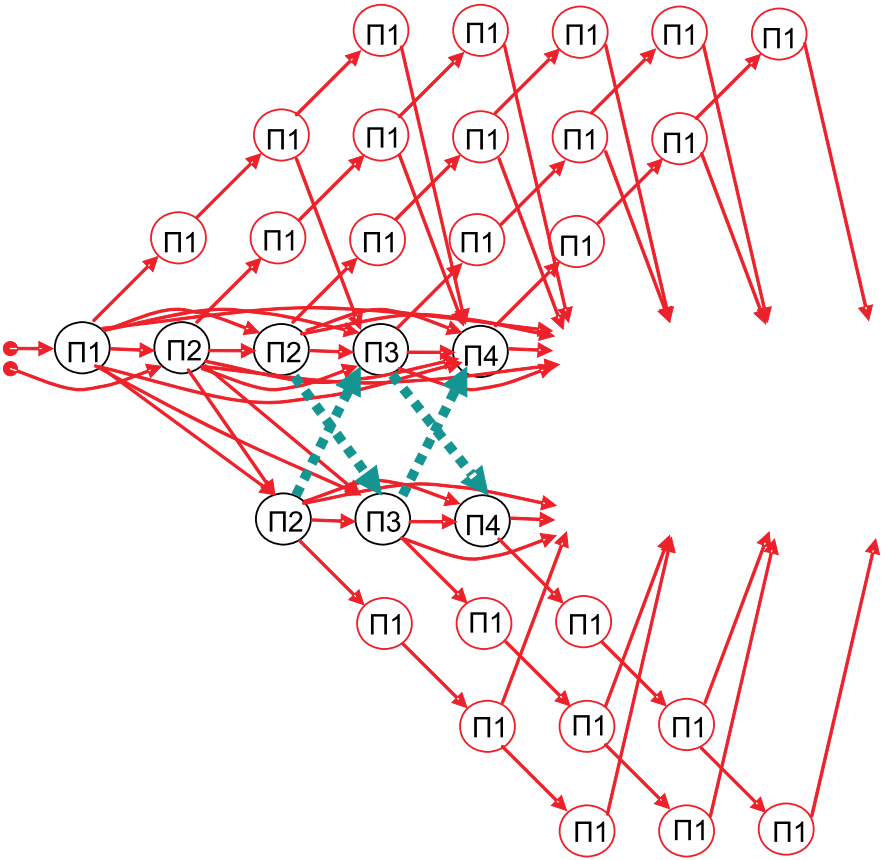


Рис. 16.9. Основываясь на простой формальной модели нейрона, мы вынуждены заменять временную динамику потенциации нейронов и межнейронных связей пространственной структурой сети. При ветвлении ассоциаций в континууме знаний системы мы в этом случае вынуждены помещать каждую ветвь в отдельный локус, причем в каждом локусе иметь еще процедурные гомологичные локусы для учета активности ранее или позднее активированных нейронов, что также увеличивает размерность сети. Жирными пунктирными стрелками показаны ассоциативные связи, которые не могут быть образованы в такой сети.

Отсутствие в простых формальных моделях нейрона различных типов активирующих и различных типов тормозящих медиаторов. Как известно, в реальном мозге используются десятки, если не сотни видов нейромедиаторов, воздействующих на

комплементарные им рецепторы. Более того, за счет различных конструкций рецепторов в реальном нейроне действие одного медиатора может модулировать действие другого. Как известно, на основе подобной организации мозг строит свои различные управляющие контуры. Кроме того, различные типы медиаторов и рецепторов могут вносить существенный вклад в логику. В качестве примера можно привести поступающие в последние годы данные о том, что допамин, с помощью D1 и D2 классов своих рецепторов, обладающих разной чувствительностью к допамину и по-разному, во многом противоположно, модулирующих НМДА, АМПА и ГАМК_γ рецепторы (Tseng Kuei Y. et al., 2004), способствует дифференцировке ассоциаций при их ветвлении и корректному определению целевой ассоциативной проекции (возможно, этот аппарат напоминает процесс получения «выигравшего» нейрона в когнитроне Фукушимы).

Введение в модель нейрона различных типов медиаторов и их рецепторов дает дополнительную степень свободы при конструировании нейросетевых архитектур.

Отсутствие в простых формальных моделях нейрона разнообразия видов межклеточных соединений и межклеточного взаимодействия. Еще одна степень свободы у разработчика нейросетей появляется, если мы даем ему возможность устанавливать самые разнообразные соединения между отсеками нейронов, которые присутствуют в живых нейросетях: аксон-дендритные, аксон-соматические, аксон-аксональные, сома-дендритные, сома-соматические, сома-аксональные, дендрит-дендритные, дендрит-соматические и дендрит-аксональные. Кроме того, весьма полезным будет включение в модель нейрона регулирования посредством экстраинаптического диффузного распространения медиатора. Это, в частности, позволит значительно уменьшить количество связей в тех частях плотносвязных сетей, которые не требуют индивидуального обучения связей. Помимо прочего, это означает, что наравне с моделью нейрона в сети должна присутствовать модель внешней среды функционирования клетки.

Отсутствие в простых формальных моделях нейрона модели генетического регулирования развития клетки. Многие нейронные сети, в том числе и многие сети, предназначенные для обработки естественного языка, строятся на основе технологии нейронов, устойчиво кодирующих некоторую семантику. Подобные нейроны всегда активируются в ответ на предъявление системе некоторого объекта.

Подобная реакция таких нейронов формируется соответствующей структурой рецептивного поля данных нейронов, то есть структурой входного сигнала от систем распознавания или нижележащих слоев сети, а сами такие нейроны можно назвать афферентно инвариантными вершинами.

В то же время анализируемые нейросетями некоторые сферы внешней предметной реальности имеют, как правило, весьма большую размерность. К примеру, в русском языке существует порядка 10 тыс. общеупотребимых и более 190 тыс. других слов современного литературного языка, около 15 тыс. имен и фамилий, около 4 млн. научных и технических терминов и названий, порядка 1 млн. топонимов и примерно столько же диалектных слов. С учетом словоизменения (12 форм склонения существительных, 24 формы склонения прилагательных и более 70 форм спряжения глаголов) общее количество слов в компендиуме русского языка достигает цифры порядка 150 млн. словоформ и более. Конечно, в реальных и искусственных нейросетях вовсе не обязательно выделение для маркировки слова отдельного нейрона: вполне может быть использовано комбинационное кодирование (хотя с учетом количества нейроцитов в реальном мозге эти цифры не представляются большими). Но в любом случае количество нейронов, необходимых для кодирования языкового компендиума или его фрагментов, весьма велико.

С точки зрения экономии машинных ресурсов вполне обоснованным выглядит соображение о постепенном формировании таких афферентно инвариантных нейронов по мере необходимости. По всей видимости, нечто подобное происходит и в зонах реального мозга, когда при интенсивном обучении формируется новые пулы «резервных» нейронов, которые могут быть использованы для маркировки новых семантических значений. Следует заметить, что формирование новых вершин при этом должно происходить в нескольких локусах, имеющих некоторую упорядоченную архитектуру связей между собой, а вновь образованные нейроны должны «уметь» устанавливать необходимые связи с другими нейронами.

Практическая реализация в модели подобной технологии требует включения в модель нейрона модели генетического кода (экспрессии генов), ответственного за образование и спраутинг вновь образуемых нейронов семантических вершин.

Одним из результатов моделирования генетического регулирования может быть введение моделей апоптоза клеток. Например, он мо-

жет быть полезен при интенсивном обучении системы, когда для «захвата» семантических вершин из временно свободного пула резервных нейронов используется аппарат, основанный на нейронах новизны. Часть процедурных нейронов или связей после реализации такого захвата в процессе обучения может подвергаться уничтожению, аналогичному апоптозу.

Выводы

- Первая простая формальная модель нейрона была описана в статье Уоррена С. Мак-Каллока и Уолтера Питтса «Логическое исчисление идей, присущее нервной активности» (1943 г.). Достоинством модели нейрона Мак-Каллока-Питтса явилась возможность реализовать в искусственных нейронных сетях, построенных на ее основе, всех основных логических функций. Главным недостатком модели нейрона Мак-Каллока-Питтса стало отсутствие в ней появления и сохранения изменений нейрона под влиянием входной стимуляции (памяти и обучения).

- На основе модели нейрона Мак-Каллока-Питтса позднее было разработано целое семейство моделей простых формальных нейронов, таких, как сигмоидальный нейрон, нейрон типа «Адалайн», нейрон типа WTA, нейрон с квадратичным сумматором, Сигма-Пи нейрон, стохастический нейрон, кубический нейрон и многие другие. В этих моделях был устранен ряд недостатков, присущих модели Мак-Каллока и Питтса. В частности, в ряде моделей появились изменение весов в ходе обучения и память.

- В то же время из-за чрезмерно упрощенного характера простых формальных моделей нейронов и их слабого соответствия реальному биологическому прототипу — живому нейрону — этим моделям остался присущ ряд существенных недостатков. К основным из них можно отнести отсутствие моделирования цикла явлений, связанных с постепенным формированием следа памяти (каскада фаз формирования памяти), отсутствие различных активирующих и различных тормозящих медиаторов, отсутствие разнообразия видов межклеточных соединений и межклеточного взаимодействия, отсутствие модели генетического регулирования развития клетки. Как представляется, данные недостатки снижают возможности модели нейрона как базового элемента разрабатываемых искусственных нейросетевых интеллектуальных систем.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Мак-Каллок У., Питтс В. Логическое исчисление идей, относящихся к нервной активности // Нейронные сети: история развития теории / Под общ. ред. А. И. Галушкина, Я. З. Цыпкина. М.: ИПРЖР, 2001. С. 5-22.
2. Уидроу Б., Хофф М.Е. Адаптивные переключющие схемы // Нейронные сети: история развития теории / Под общ. ред. А. И. Галушкина, Я. З. Цыпкина. М.: ИПРЖР, 2001. С. 58-73.
3. Хайкин С. Нейронные сети: полный курс. М.: Издательский дом «Вильямс», 2006. 1104 с.
4. Рассел С., Норвиг П. Искусственный интеллект: современный подход. М.: Издательский дом «Вильямс», 2006. 1408 с.
5. Круглов В.В., Борисов В.В. Искусственные нейронные сети. Теория и практика. М.: Горячая линия - Телеком, 2000. 382 с.
6. Головкин В.А. Нейронные сети: обучение, организация и применение. М.: ИПРЖР, 2001. 256 с.
7. Омату С., Халид М., Юсоф Р. Нейроуправление и его приложения. М.: ИПРЖР, 2002. 272 с.
8. Калан Р. Основные концепции нейронных сетей. М.: Издательский дом «Вильямс», 2003. 288 с.
9. Оссовский С. Нейронные сети для обработки информации. М.: Финансы и статистика, 2004. 344 с.

Дополнительная

1. Тарков М. С. Нейрокомпьютерные системы // <http://www.intuit.ru/department/expert/neuro/2/2.html>
2. Тарков М. С. Указ. раб. // <http://www.intuit.ru/department/expert/neuro/2/3.html>
3. Тарков М. С. Указ. раб. // <http://www.intuit.ru/department/expert/neuro/2/5.html>
4. Тарков М. С. Указ. раб. // <http://www.intuit.ru/department/expert/neuro/2/4.html>
5. Галушкин А. И. Нейрокомпьютеры. М.: ИПРЖР, 2000. 528 с.
6. Tseng Kuei Y., O'Donnell Patricio. Dopamine-Glutamate Interactions Controlling Prefrontal Cortical Pyramidal Cell Excitability Involve Multiple Signaling Mechanisms // The Journal of Neuroscience. 2004. June 2. 24(22). P. 5131-5139.

Глава 17. БИОЛОГИЧЕСКИ ПРАВДОПОДОБНЫЕ МОДЕЛИ ОБРАБОТКИ СИГНАЛОВ НЕЙРОНОМ

Как представляется, повысить возможности модели нейрона, использующейся в качестве элемента искусственных нейросетевых интеллектуальных систем, можно путем создания биологически правдоподобных моделей, включающих в себя моделирование каскада биохимических реакций, обеспечивающих обработку сигналов нейроном и формирование фаз памяти, моделирование нейрогенеза и развития клетки под управлением ее генетического аппарата, а также другие аспекты.

В главе показаны особенности функционирования одной из биологически правдоподобных моделей нейрона на примере правил обучения Хэбба.

Реализация моделей нейрона как сложной динамической системы возможна на базе программно-аппаратных средств компьютерной техники. Используемые для моделирования нейрона программы должны иметь развитые функциональные способности и создаваться с учетом реальной производительности существующих аппаратных устройств.

17.1. Моделирование каскада биохимических реакций, обеспечивающих обработку сигналов нейроном, и формирование фаз памяти

Биологически правдоподобные (реалистичные) модели обработки сигналов в нейроне создаются в целях использования моделируемых функциональных способностей нервных клеток для создания искусственных интеллектуальных нейросетевых систем. При этом в таких моделях может опускаться часть других протекающих в клетках процессов, например, обеспечивающих жизнедеятельность клетки. По своей форме такие модели, как правило, представляют собой систему из многих уравнений. Рассмотрим основные свойства таких биологически правдоподобных моделей и особенности организации программной среды для их разработки. В качестве примера для представления таких моделей будем использовать разработанную российским предприятием «Тюменское ассоциативных систем объединение» модель нейрона «ТАСО-2005» (В.А. Филиппов, 2005 г.), функционирующую

в программной инструментальной среде разработки динамических моделей нейронных сетей, сложных систем и искусственного интеллекта «ТАСО Нейроконструктор».

Важнейшей особенностью биологически правдоподобного моделирования обработки сигналов нейроном следует признать отражение в модели нейрона биохимического каскада событий, связанных с постепенным формированием следа памяти в клетке. Как известно, в живом нейроне формирование следа памяти (обучение, в данном контексте это идентичные понятия) достигается за счет облегчения (потенциации) связей между нейронами, непосредственно связанными между собой и участвующими в проведении сигнала по образуемому ими пути. Образование следа памяти включает в себя множество последовательных событий, в том числе с обратными связями, имеющих различную природу: от диффузии химических веществ в среде и прохождения различного рода электрических потенциалов вдоль мембраны до синтеза новых белков и структурных изменений клетки под управлением ее генетического аппарата. Все эти события обеспечиваются работой и трансформацией различных сигнальных и структурообразующих молекул в составе нейрона (рис. 17.1).

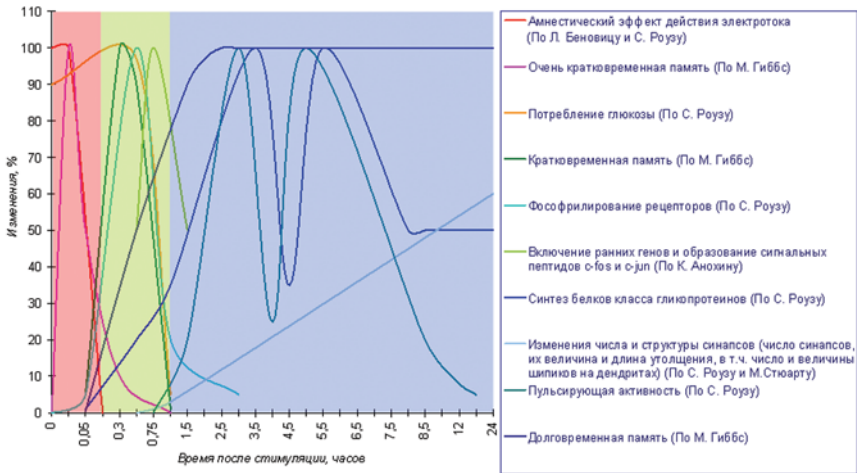


Рис. 17.1. Одна из возможных иллюстраций последовательности явлений в рамках каскада молекулярных изменений при формировании памяти. На красном фоне показаны краткосрочные события, на зеленом — среднесрочные, на голубом — события, связанные с долговременным запоминанием. Горизонтальная шкала имеет переменный шаг.

В модели нейрона «ТАСО-2005» представляется процесс консолидации следа памяти, включающий в себя краткосрочные, среднесрочные и долгосрочные фазы формирования памяти, причем более краткосрочные фазы служат основой для формирования более долгосрочных. Кроме того, в рамках модели нейрона «ТАСО-2005» принято положение, согласно которому с каждой из фаз формирования памяти связаны важные когнитивные способности нейросетей, элементами которых являются эти нейроподобные элементы. К примеру, с краткосрочными фазами памяти, привязанными, главным образом, к явлениям фасилитации и формирования кальциевого микродомена в аксонной терминали, диффузии медиатора и его взаимодействия с рецепторами постсинаптической мембраны, связано обеспечение перевода активации с одной клетки на другую. Со среднесрочными событиями, такими, как фосфорилирование постсинаптических рецепторов и формирование постсинаптических потенциалов, связаны некоторые способности сетей к логическим выводам, пониманию контекстуальных значений и т.п. Наконец, долгосрочное запоминание обеспечивается моделированием структурных изменений в виде синтеза рецепторов различных медиаторов, а также моделированием структурных изменений в аксонной терминали пресинаптического нейрона. Модель нейрона «ТАСО-2005» является отсековой и составляется как совокупность моделей дендритов, сомы и аксонных терминалей, причем все эти отсеки могут иметь разные параметры. В целом модель представляет собой систему из более чем тридцати уравнений. При необходимости модель нейрона «ТАСО 2005» может быть редуцирована до простой формальной модели нейрона путем обнуления ряда коэффициентов.

Рассмотрим на основе модели нейрона «ТАСО-2005» в среде «ТАСО Нейроконструктор» (В. А. Филиппов, Ф. В. Лактионов) (рис. 17.2) моделирование обучения согласно правилам Хэбба. Сами правила были приведены в главе 15.

Вначале проиллюстрируем, каким образом один нейрон (нейрон 1), имеющий первоначально слабую связь с другим нейроном (нейрон 3), прохождение сигнала через которую не может в момент начала обучения и на первых стадиях обучения вызвать потенциал действия (ПД) в нейроне 3, по мере продолжения активности нейрона 1 таким образом усиливает эту связь, что оказывается способен вызвать ПД в нейроне 3 даже после своего одиночного разряда.

Затем покажем, как активация нейрона 1, уже усилившего свою связь с нейроном 3, может помочь нейрону 2, также имеющему сла-

бую связь с нейроном 3, активация которой не способна вызвать ПД нейрона 3, всего за одну близковременную последовательную активацию нейронов 1 и 2 таким образом усилить связь между нейронами 2 и 3, что непосредственно после этой единичной совместной активации нейронов 1 и 2 нейрон 2 в одиночку сможет вызвать генерацию ПД в нейроне 3.

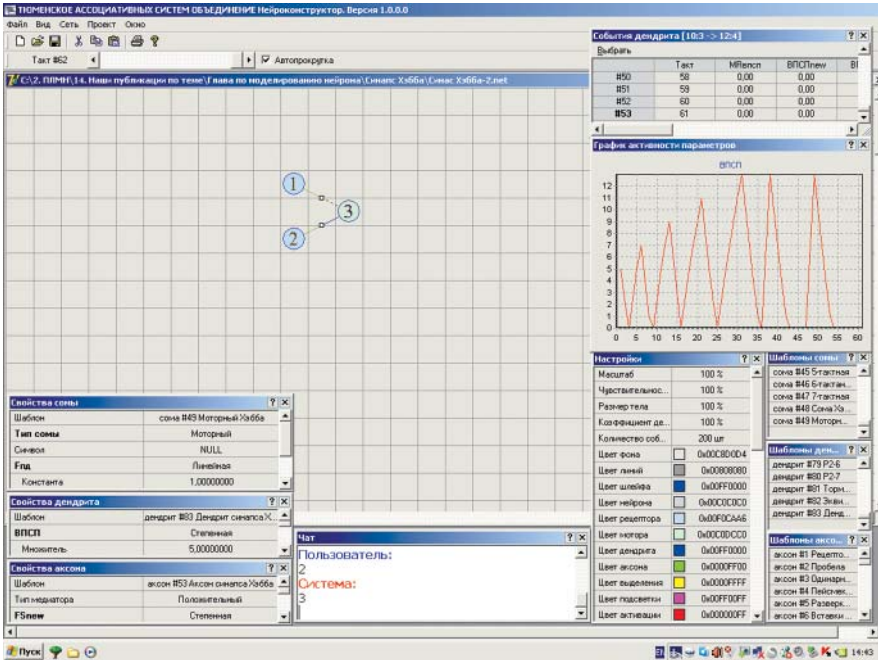


Рис. 17.2. Общий вид рабочей области редактора сетей программной инструментальной среды разработки динамических моделей нейронных сетей, сложных систем и искусственного интеллекта «ТАСО Нейроконструктор» (В. А. Филиппов, Ф. В. Лактионов, ТАСО, 2007 г.)

Для иллюстрации правил Хэбба нам достаточно построить сеть из трех нейронов. Нейроны 1 и 2 являются рецепторными нейронами, которые генерируют потенциалы действия в ответ на ввод соответствующего символа (в данном случае цифр 1 и 2) в окне чата диалога с сетью. Оба они имеют связи с нейроном 3. Нейрон 3 является моторным нейроном, выводя, в случае генерации им потенциала действия, в качестве ответа сети в окне диалога соответствующий символ (3). Зе-

ленным цветом обозначены аксоны нейронов 1 и 2. Синим показаны дендриты нейрона 3. На рисунке 17.3 показан момент, когда накопленный в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с аксоном нейрона 1, вызванный постсинаптический потенциал приводит к генерации потенциала действия в соме нейрона 3.

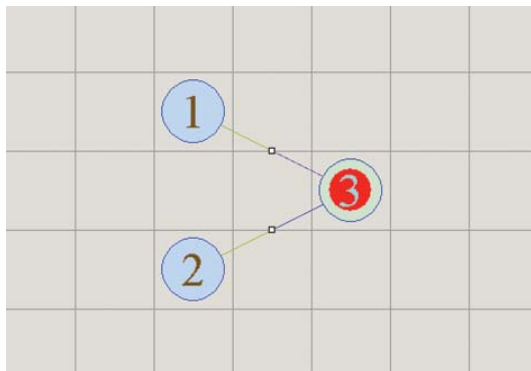


Рис. 17.3. Сеть для иллюстрации правила Хэбба.

Перед началом обучения и нейрон 1, и нейрон 2 имеют слабые связи с нейроном 3: аксоны обоих этих нейронов выбрасывают малое количество медиатора; постсинаптические мембраны дендритов нейрона 3 имеют небольшое число глутаматных рецепторов НМДА и вовсе не имеют АМПА-рецепторов; как следствие, ВПСП в дендритах нейрона 3 очень мал и не способен привести к генерации серии разрядов или даже одиночного потенциала действия нейрона 3. Именно поэтому, если мы однократно активируем вводом символа «1» нейрон 1, то, хотя небольшое количество медиатора и выделится в синаптическую щель, мы не получим потенциала действия нейрона 3 (*графики 17.1 и 17.5, событие 1; для удобства восприятия все связанные между собой события показаны под одинаковыми номерами на всех графиках*).

Попробуем ввести символ 1, активирующий нейрон 1 два, три, четыре и пять раз подряд. При продолжающейся активации нейрона 1 в его аксонной терминали моделируется накопление кальция, который не успевает быть полностью выведен из терминали до подхода нового ПД из сомы нейрона 1 — аксонная фасилитация. Соответственно, уровень фасилитации возрастает в зависимости от продолжительности непрерывной активации нейрона 1 (*график 17.2, события 2, 3, 4 и 5*). Явления фасилитации не было при однократной активации нейрона 1, так как

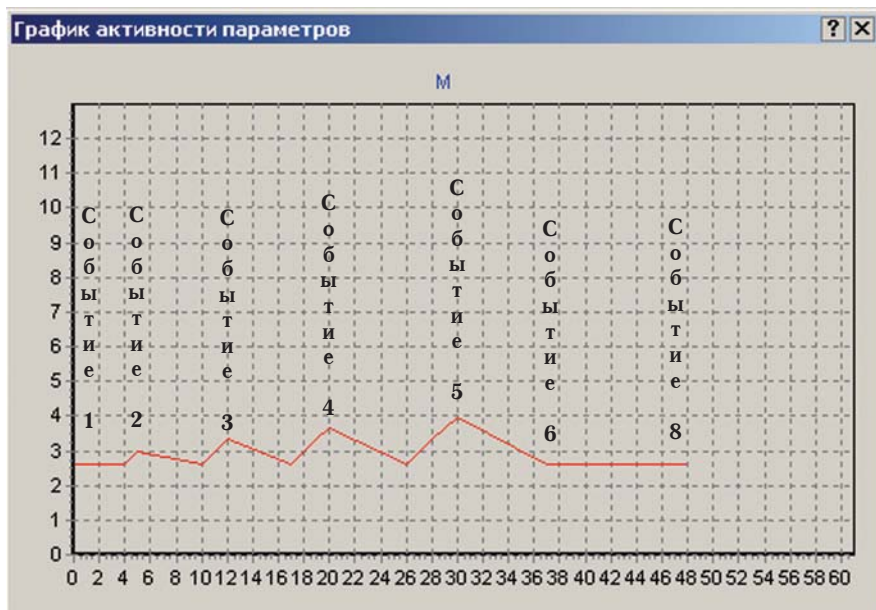


График 17.1. Выброс медиатора нейроном 1. Однократная активация нейрона 1 приводит к выбросу медиатора из терминали его аксона на уровне 2,6 условных единиц (событие 1). Этого количества медиатора оказывается недостаточно для генерации ВПСП в постсинаптическом нейроне 3, способного, в свою очередь, вызвать ПД в нейроне 3. При неоднократной активации нейрона 1 на протяжении нескольких тактов работы сети количество выбрасываемого из его аксона медиатора возрастает в результате влияния моделируемого накопления кальция в аксонной терминали — аксонной фасилитации. События 2, 3, 4 и 5 — выброс медиатора аксоном нейрона 1 в результате генерации им потенциалов действия на протяжении, соответственно, 2-х, 3-х, 4-х и 5-ти тактов подряд. При активации на протяжении 5 тактов подряд аксон нейрона 1 выбрасывает уже 3,97 условные единицы активирующего медиатора.

События 6 и 8 показывают выброс медиатора после одиночных потенциалов действия нейрона 1 соответственно на 37 и 48 тактах работы системы. Так как без участия фасилитации аксона количество выбрасываемого медиатора постоянно (при используемых параметрах модели - на уровне 2,6 условных единиц), то экстраполируемая программой линия графика показана в виде прямой.

По горизонтальной оси графика показаны такты работы нейрона в сети. По вертикальной оси — условные величины, характеризующие величину явления в условных единицах (В. А. Филиппов, ТАСО, 2007 г.).

кальций при перерыве в генерации ПД довольно быстро выводится из аксона. Поэтому на графике 17.2 не было пика в момент первой активации нейрона 1 (*события 1 на графике 17.1*). Повышение уровня фасилитации, наряду со значением частоты потенциалов действия нейрона в течение такта, обуславливает увеличение выброса медиатора данным нейроном в синаптическую щель (*график 17.1, события 2, 3, 4, 5*). Аксонная фасилитация в модели «ТАСО-2005» — событие с небольшим временем жизни, одна из основ краткосрочных фаз памяти, но ее значение для проведения сигнала между клетками весьма велико.

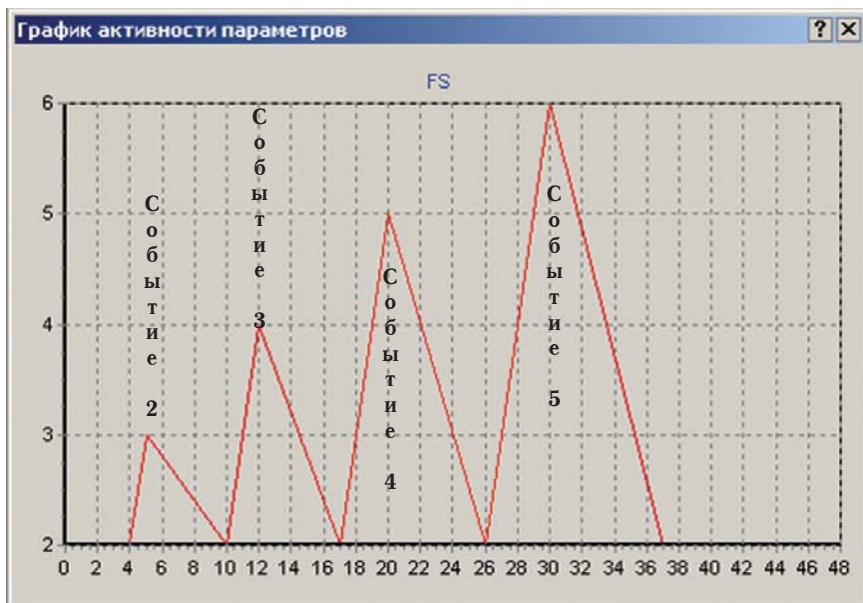


График 17.2. Усиление поступления кальция в аксонную терминаль нейрона 1, способствующее увеличению выброса нейромедиатора в синаптическую щель — аксонная фасилитация. При однократной активации нейрона фасилитации нет — внутриклеточные механизмы успевают вывести кальций из аксона. При активации нейрона 1 на протяжении 2 тактов подряд кальций не успевает выводиться полностью и начинает накапливаться в терминали — появляется фасилитация на уровне 3 условных единиц (событие 2). При активации нейрона 1 на протяжении 5 тактов работы системы подряд уровень фасилитации достигает уже 6 условных единиц (событие 5). Наряду с частотой потенциалов действия, уровень фасилитации определяет количество медиатора, выбрасываемого из данной терминали в синаптическую щель. (В. А. Филиппов, ТАСО, 2007 г.)

Несмотря на увеличение выброса медиатора, количество событий медиаторно-рецепторного соединения в эксордиуме дендрита нейрона 3, образующего синапс с аксоном нейрона 1, вначале остается неизменным, так как неизменно количество НМДА рецепторов на постсинаптической мембране нейрона (график 17.3).

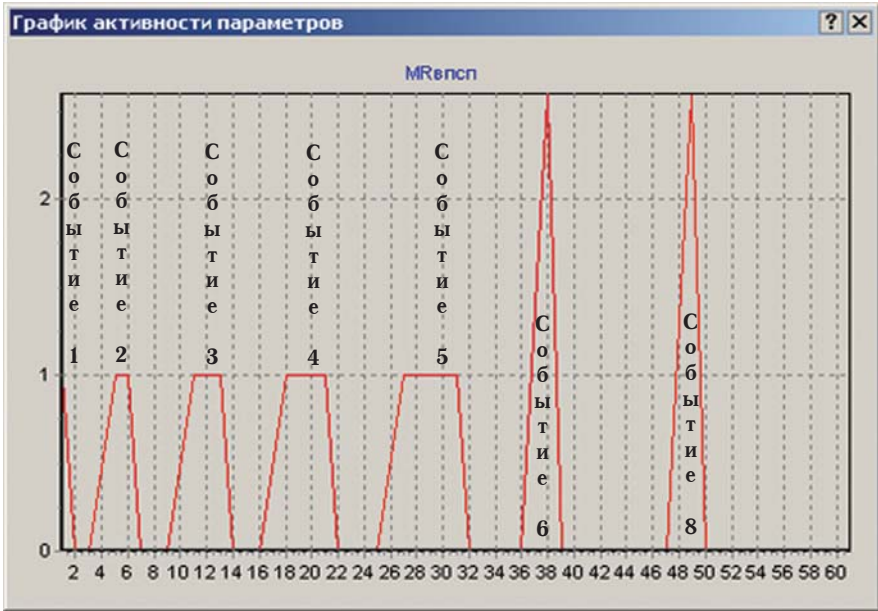


График 17.3. Количество событий медиаторно-рецепторного соединения на постсинаптической мембране дендрита нейрона 3, образующего синапс с аксоном нейрона 1. Так как до начала обучения в мембрану встроено малое и не изменяющееся вначале число рецепторов, то и после активации нейрона 1 на протяжении одного такта работы сети (событие 1) и после активации на протяжении 2, 3, 4 и 5-ти тактов (события 2-5) количество событий медиаторно-рецепторного соединения остается неизменным, на уровне одной условной единицы.

После того как в нейроне 3 произошел синтез новых молекул-рецепторов медиатора, возрастает количество событий медиаторно-рецепторного соединения на постсинаптической мембране дендрита, имеющего синапс с аксоном нейрона 1 (события 6 и 8), после выброса медиатора этим аксоном (В. А. Филлипов, ТАСО, 2007 г.).

В то же время, хотя количество событий медиаторно-рецепторного соединения остается неизменным, величина положительных вызванных постсинаптических потенциалов (ВПСП) в дендрите нейрона во

время каждой из серии потенциалов действия нейрона 1 со все увеличивающейся продолжительностью (с 1 до 5 тактов подряд) также увеличивается, так как при непрерывном совершении событий медиаторно-рецепторных соединений в дендрите моделируется фосфорилирование рецепторов и накопление остаточного ВПСП. С этими процессами в модели нейрона «ТАСО-2005» связывается понятие среднесрочных фаз формирования памяти (*график 17.4*).

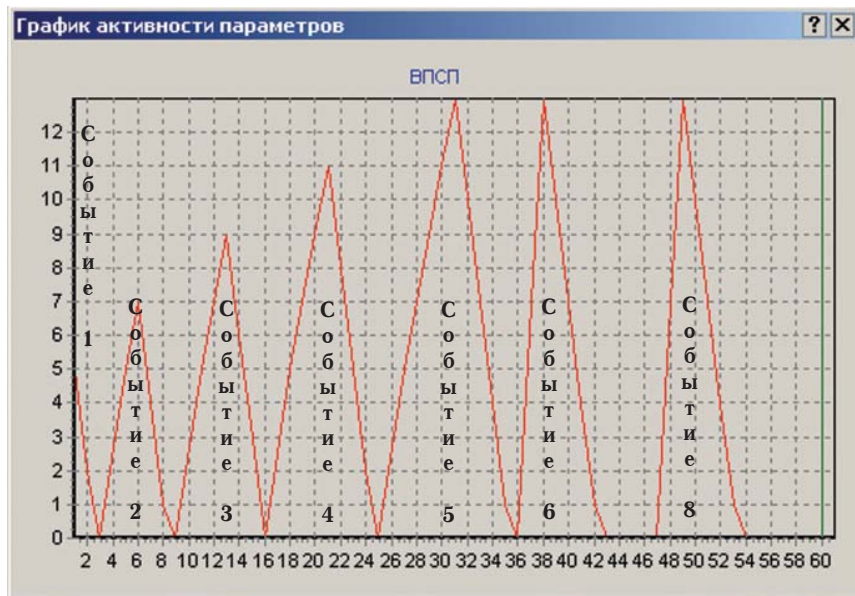


График 17.4. Вызванные постсинаптические потенциалы в дендрите нейрона 3, образующем синапс с аксоном нейрона 1 в результате получения медиатора от нейрона 1. Если при получении медиатора в результате единичного ПД нейрона 1 в нейроне 3 образуется ВПСП величиной 5 условных единиц (событие 1), то после получения медиатора из аксона нейрона 1 на протяжении пяти тактов работы сети в данном дендрите нейрона 3 образуется уже ВПСП величиной 13 условных единиц (событие 5). При этом данный ВПСП превышает установленный порог нейрона 3 и приводит к генерации потенциала действия нейроном 3. События 2-4 — ВПСП в дендрите нейрона 3, вызванные выбросом медиатора из нейрона 1, соответственно, на протяжении 2, 3 и 4 тактов работы сети.

После того как в результате синтеза новых АМПА рецепторов в дендрите нейрона 3, имеющего синапс с нейроном 1, данная связь оказывается структурно потенцированной, даже одиночные потенциалы действия нейрона 1 могут вызвать в этом дендрите ВПСП, достаточно высокие (события 6 и 8), чтобы превысить порог и вызвать потенциалы действия нейрона (В. А. Филиппов, ТАСО, 2007 г.).

После получения от нейрона 1 медиатора на протяжении 5 тактов работы сети подряд величина ВПСП в нейроне 3 достигает величины в 13 условных единиц и превышает порог нейрона 3, вызывая генерацию первого потенциала действия этого нейрона (*график 17.5, событие 5*)

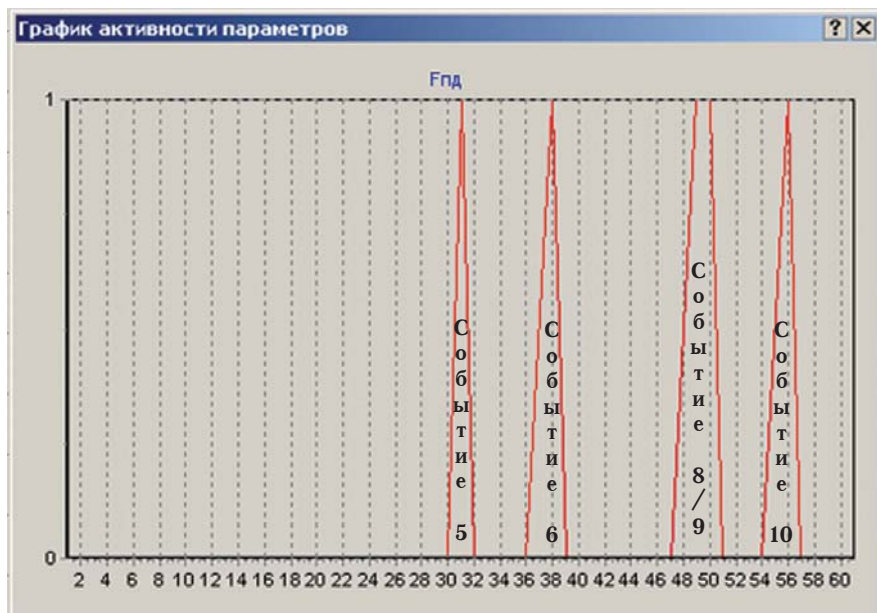


График 17.5. Частота потенциалов действия нейрона 3. После получения медиатора из аксона нейрона 1 на протяжении пяти тактов работы сети в дендрите нейрона 3, образующем синапс с аксоном нейрона 1, накопленный ВПСП превышает порог нейрона 3 и приводит к генерации первого единичного потенциала действия нейроном 3 (событие 5). Более слабые ВПСП, сформировавшиеся в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с аксоном нейрона 1 в результате получения медиатора из нейрона 1 на протяжении 1-4 тактов работы сети не превышали величину порога нейрона 3 и не приводили к генерации им потенциалов действия, которых, соответственно, нет на графике.

После синтеза рецепторов в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с аксоном нейрона 1, даже одиночные ПД нейрона 1 вызывают ПД нейрона 3 (событие 6).

Совместная активация нейронов 1 и 2 вызывает серию ПД нейрона 3 на протяжении 2-х тактов работы системы (событие 8/9).

После структурной потенциации с помощью нейрона 1 дендрита нейрона 3, имеющего синапс с аксоном нейрона 2, одиночный ПД нейрона 2 становится способным привести к генерации потенциала действия (событие 10) нейроном 3 (В. А. Филиппов, ТАСО, 2007 г.).

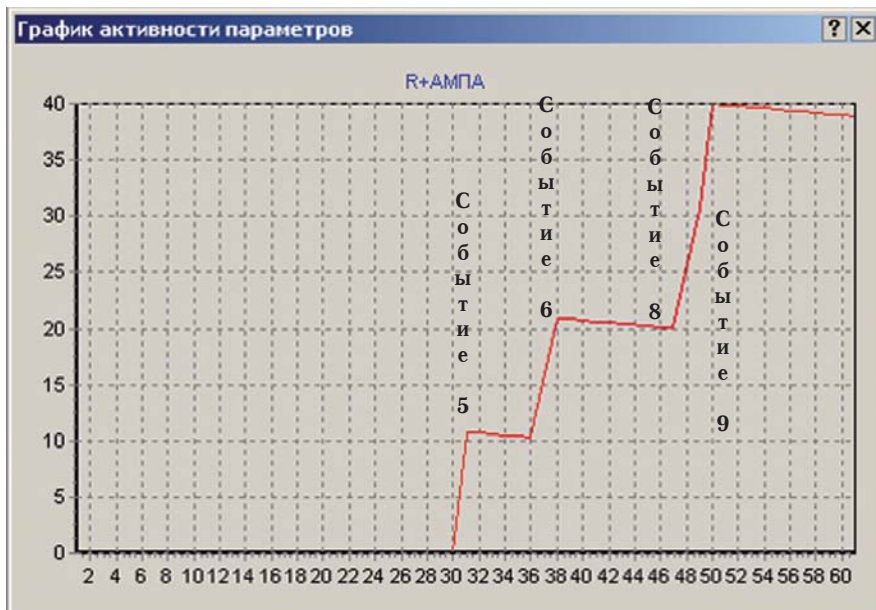


График 17.6. Синтез АМПА-рецепторов в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с нейроном 1. После генерации каждого потенциала действия в нейроне 3 происходит моделируемый синтез новых глутаматных АМПА-рецепторов. Так, например, после первого единичного потенциала действия (событие 5) в нейроне 3 синтезируются и встраиваются в постсинаптическую мембрану дендрита нейрона 3, образующего синапс с нейроном 1, новые АМПА-рецепторы в количестве 10,82 условных единиц. Синтез и встраивание новых рецепторов происходит всякий раз после генерации нейроном потенциала действия (события 6, 8 и 9). Мы видим, что после синтеза рецепторов начинается более медленный процесс их распада, происходит забывание, но здесь мы эти процессы не рассматриваем (В. А. Филиппов, ТАСО, 2007 г.).

В том случае, если в каком-либо дендрите возникает положительный ВПСП, который приводит к генерации этим нейроном потенциала действия с какой-либо частотой, в модели нейрона «ТАСО-2005» происходит синтез новых молекул-рецепторов медиатора, вызвавшего соответствующий ВПСП, и их встраивание в постсинаптическую мембрану всех тех и только тех дендритов, в которых присутствует положительный ВПСП (О процессе встраивания АМПА рецепторов в постсинаптическую мембрану см.: Wang Z. et al., 2008). Подчеркнем, что новые рецепторы встраиваются и в те дендриты данного нейрона, ВПСП в

которых слишком мал для самостоятельного вызова ПД, естественно, при условии, что ПД нейрона все же был вызван суммой всех ВПСП в дендритах данного нейрона. В этом случае моделируется синтез новых глутаматных АМПА-рецепторов (*график 17.6*). В модели нейрона «ТАСО-2005» также моделируется синтез различных рецепторов ГАМК, которая обычно выполняет роль тормозного медиатора, но для иллюстрации правил Хэбба данные процессы не требуется описывать.

Так как количество рецепторов, воспринимающих медиатор, на постсинаптической мембране нейрона 3 после генерации им первого потенциала действия резко возрастает, то теперь уже даже единичного выброса медиатора нейроном 1 (график 17.1, событие 6) без аксонной фасилитации нейрона 1 оказывается достаточным, чтобы обеспечить такой уровень ВПСП в связанном с аксоном нейрона 1 дендрите нейрона 3 (график 17.4, событие 6), который сразу же вызывает потенциал действия нейрона 3 (график 17.5, событие 6). После синтеза рецепторов проведение возбуждения по связи между первым и третьим нейронами существенно облегчилось в результате структурного изменения клетки: увеличения количества молекул-рецепторов, связывающихся с выбрасываемым медиатором. Таким образом, произошло обучение связи. В модели «ТАСО-2005» время жизни АМПА-рецепторов на постсинаптической мембране довольно велико, а структурные изменения клетки рассматриваются в качестве основы долговременной памяти, хотя моделируется и медленный распад рецепторов — забывание.

Покажем теперь, как потенцированная связь между нейроном 1 и 3 может обеспечить достаточное для вызова ПД в нейроне 3 усиление связи от нейрона 2 к нейрону 3 в результате генерации нейроном 2 всего лишь единичного потенциала действия.

В начале обучения и аксон нейрона 2, и образующий с ним синапс дендрит нейрона 3 имеют те же самые параметры, что имела связь от нейрона 1 к нейрону 3 до обучения. Поэтому если мы однократно активируем вводом символа 2 нейрон 2, то выброшенные из аксона этого нейрона 2,6 условные единицы медиатора не приведут к генерации ПД в нейроне 3. Фасилитация при однократном потенциале действия возникнуть не успевает.

Соответственно, положительный ВПСП в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с аксоном нейрона 2, слишком мал, чтобы превысить порог нейрона 3 (*график 17.8, событие 7*).

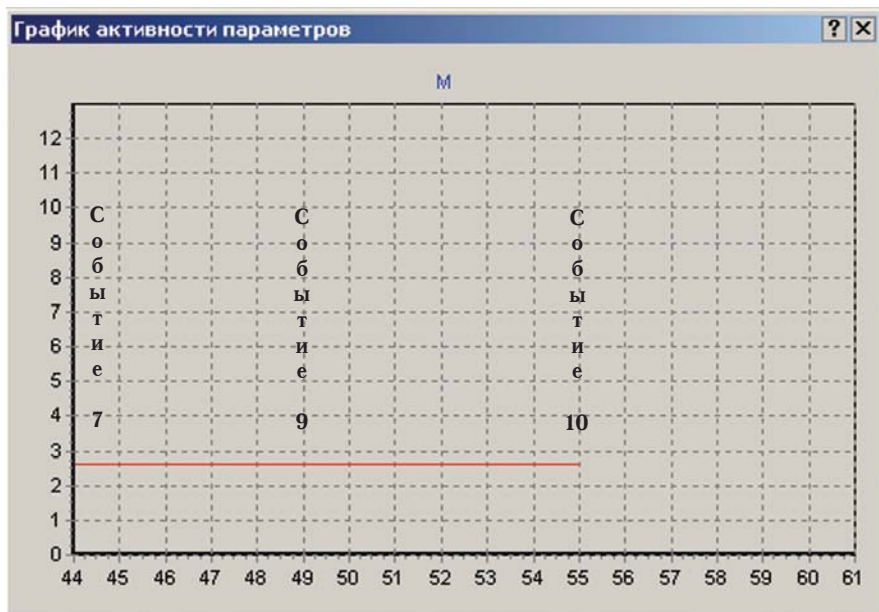


График 17.7. Выброс медиатора нейроном 2. Так же, как и в начале обучения связи от нейрона 1 к нейрону 3, однократная активация нейрона 2 на 44 такте работы сети приводит к выбросу медиатора из терминали его аксона на уровне 2,6 условных единиц, что недостаточно для вызова ПД в нейроне 3 (событие 7).

В рассматриваемом нами примере нейрон 2 всегда разряжается путем генерации одиночного ПД, без фасилитации, что обуславливает неизменное количество выбрасываемого в синаптическую щель нейромедиатора (события 9 и 10). График выброса медиатора показан в виде прямой в результате экстраполяции одинаковых значений выброса медиатора после одиночных ПД нейрона 2 (В. А. Филиппов, ТАСО, 2007 г.).

Активируем теперь последовательно нейрон 1 на 48 такте работы системы (*графики 17.1, 17.3, 17.4, событие 8*) и нейрон 2 на 49 такте (*график 7, событие 9*). Выброс медиатора нейроном 1 в результате одиночного потенциала действия теперь сразу же приводит к генерации потенциала действия нейроном 3 (*графики 17.1, 17.3, 17.4, 17.5, событие 8*). Аксон нейрона 2 по-прежнему выбрасывает 2,6 условные единицы медиатора (*график 17.7, событие 9*) и, как и раньше, вызывает в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с нейроном 1, слишком слабый ВПСП для самостоятельного превышения порога нейрона 3 (*график 17.8, со-*

бытие 9). Но ПД в нейроне 3 вызван нейроном 1 (график 5, событие 8). В нейроне 3 происходит синтез молекул рецепторов медиатора (АМПА). Теперь вновь синтезированные молекулы встраиваются как в дендрит нейрона 3, имеющий синапс с нейроном 1, так и в дендрит нейрона 3, имеющий синапс с нейроном 2, так как в нем также присутствует хоть и меньший, но ВПСП. В эти два дендрита нейрона 3 встраивается различное количество рецепторов, пропорционально уровню ВПСП (график 17.6, события 8 и 9 и график 17.9, событие 9).

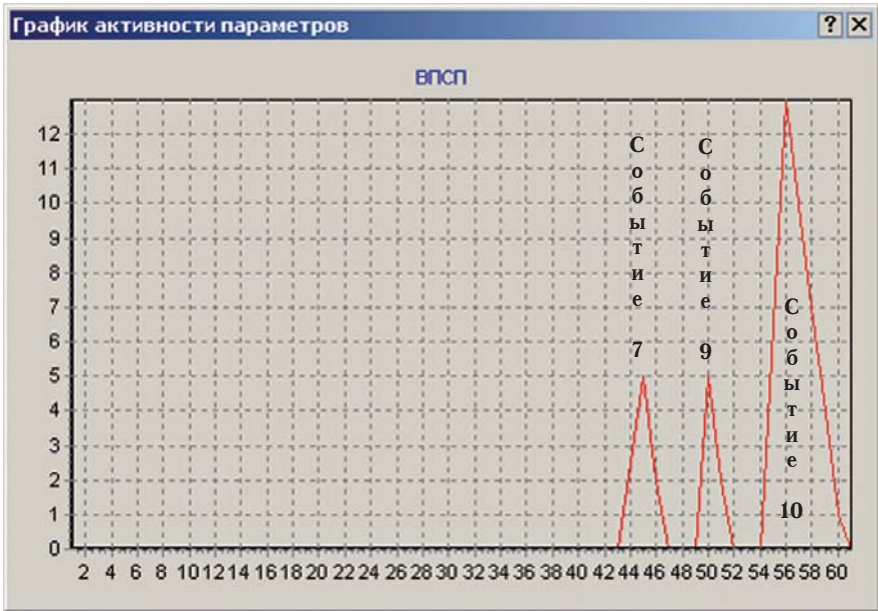


График 17.8. Вызванные постсинаптические потенциалы в дендрите нейрона 3, образующем синапс с аксоном нейрона 2 в результате получения медиатора от нейрона 2. Одиночный ПД нейрона 2 на 44 такте работы сети слишком мал, чтобы сформировать на 45 такте ВПСП, достаточный для преодоления порога нейрона 3.

Таким же остается и ВПСП в этом дендрите нейрона 3 при близковременной последовательной активации нейронов 1 и 2 (событие 9).

После того как в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с аксоном нейрона 2, происходит синтез новых АМПА-рецепторов, вызываемый выбросом медиатора из аксона нейрона 2, ВПСП в этом дендрите, даже при отсутствии активности нейрона 1, становится достаточно большим (событие 10), чтобы самостоятельно вызвать генерацию потенциала действия нейроном 3 (В. А. Филиппов, ТАСО, 2007 г.).

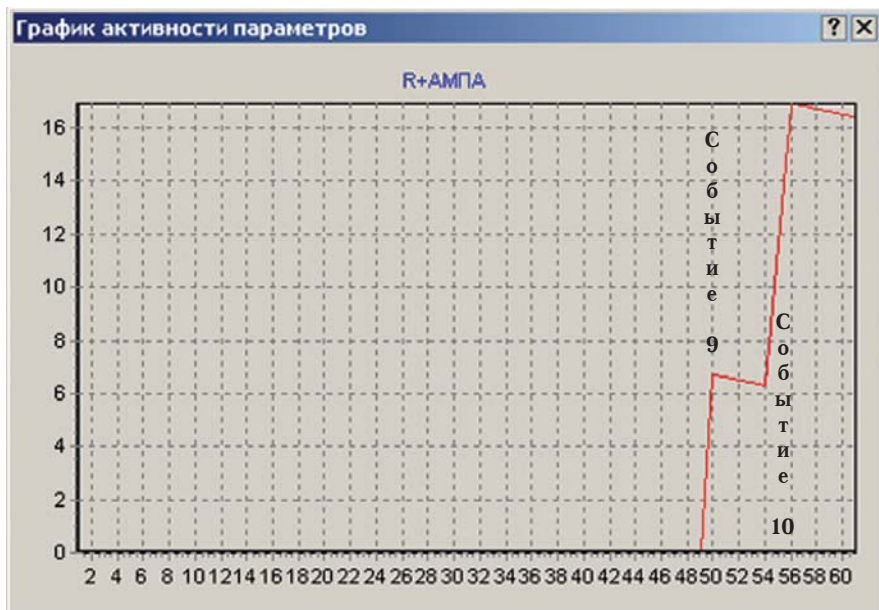


График 17.9. Синтез АМПА-рецепторов в дендрите нейроне 3, имеющем синапс с нейроном 2. Событие 9 — синтез рецепторов в результате близковременной последовательной активации нейронов 1 и 2. После того как при помощи нейрона 1 увеличивается число рецепторов в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с аксоном нейрона 2, даже одиночная активация нейрона 2 приводит к ПД нейрона 3 и синтезу новых рецепторов (событие 10) в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с аксоном нейрона 2 (В. А. Филиппов, ТАСО, 2007 г.).

Теперь встроенных в постсинаптическую мембрану дендрита нейрона 3, имеющего синапс с нейроном 2, рецепторов медиатора оказывается достаточно, чтобы, в том случае, если мы снова активируем на 55 такте работы сети уже только один нейрон 2 (то есть при выбросе медиатора аксоном нейрона 2 в результате его одиночного ПД, без разряда нейрона 1 — *график 17.7, событие 10*), самостоятельно сформировать такой ВПСП в дендрите нейрона 3, имеющем синапс с аксоном нейрона 2 (*график 17.8, событие 10*), который вызывает ПД в нейроне 3 (*график 17.5, событие 10*).

Таким образом, мы продемонстрировали, как два вышеприведенных правила Хэбба могут выполняться в рамках моделей нейронов с биологически правдоподобным моделированием процессов обработки сиг-

налов. Биологически реалистичные модели нейронов позволяют строить искусственные нейронные сети с существенно большими способностями к решению ряда задач, например, к обработке естественного языка и моделированию процессов мышления. Но рассмотрение таких сетевых архитектур выходит за рамки анализа моделирования нейрона.

17.2. Моделирование нейрогенеза

Еще одним важным требованием к моделям нейронов является обеспечение на основе таких нейронов структурных изменений разрабатываемых нейросетей.

Дело в том, что следствием использования в сетях афферентно инвариантных «нейронов моей бабушки» (Одна из последних статей об афферентно инвариантных нейронах: Gelbard-Sagiv N. et al., 2008) является довольно большая размерность сетей, когда количество нейронов и их отсеков при решении ряда задач, например, обработки естественного языка, может достигать сотен миллионов единиц и более. «Вручную» такие сети «нарисовать» в программной среде невозможно.

Кроме того, соображения экономии машинных ресурсов обуславливают технологическое решение, согласно которому новые пулы резервных нейронов, которые могут быть использованы для маркировки семантических объектов, с которыми система знакомится впервые, есть смысл создавать по мере необходимости. Такой процесс, по-видимому, напоминает неонейрогенез у взрослых организмов.

И первоначально генерируемые сети, и изменения сетевой структуры формируются как весьма сложноструктурированные объекты с различающейся, но определенным образом упорядоченной сетевой архитектурой различных типов (рис. 17.4).

Решить эти проблемы можно при помощи моделирования нейрогенеза.

В модификации модели нейрона «ТАСО-2007» для этого используется технология включения в ее состав программного кода, отвечающего за распознавание необходимости и за собственно обеспечение структурных изменений нейронов и, соответственно, сети в целом. Сюда относится образование новых нейронов, спраутинг как уже существующих, так и вновь образованных нейронов, а также апоптоз нейронов, становящихся ненужными, прежде всего процедурных.

Функционально такой код напоминает генетический код живых нейронов, а отдельные фрагменты этого кода, отвечающие за отдельные операции структурных перестроек, напоминают отдельные гены. Соответственно, в программной инструменталь-

ной среде «ТАСО-Нейроконструктор» такие фрагменты программного кода получили название «кибергены»¹.

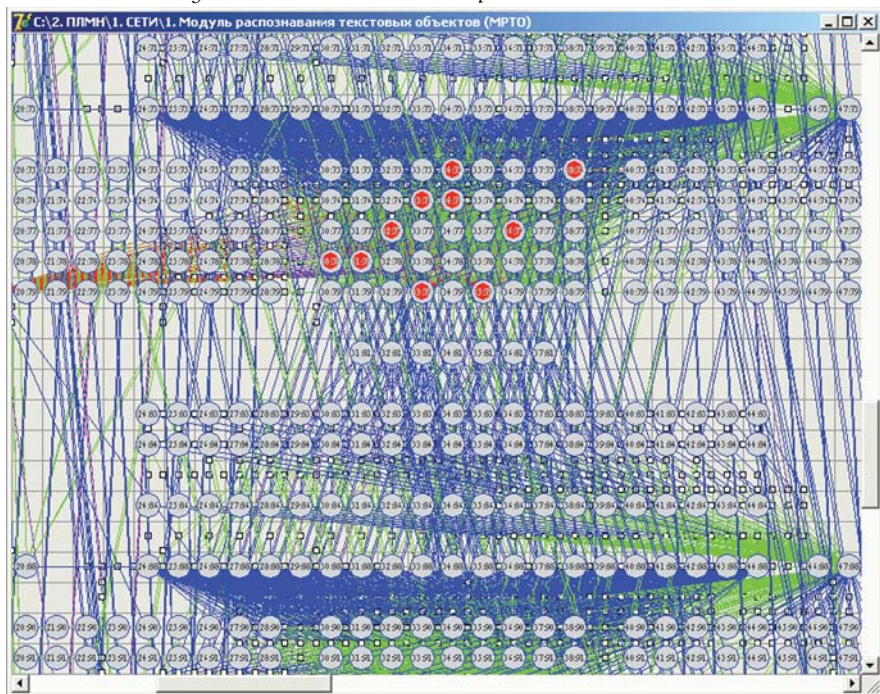


Рис. 17.4. Сетевые архитектуры различных функциональных локусов могут значительно отличаться друг от друга при сохранении задаваемой разработчиком упорядоченности структур. Небольшой фрагмент колонки в составе модуля распознавания текстовых объектов (В. А. Филиппов, ТАСО, 2008 г.)

17.3. Основные требования к организации программной инструментальной среды для разработки биологически правдоподобных моделей обработки сигналов в нейроне

Биологически реалистичные модели обработки сигналов включают в себя большее число уравнений по сравнению с простыми формальными моделями нейронов. Возрастает и ресурсоемкость таких моделей при их реализации на базе компьютерных программно-аппаратных

¹ Не путать с «генетическими алгоритмами». Последние правильнее было бы называть «эволюционными алгоритмами».

комплексов. При этом сетевые решения на основе афферентно инвариантных нейронов могут требовать включения в состав соответствующих нейросетей десятков и сотен миллионов отсеков нейронов (дендритов, сом и аксонных терминалей).

Соответственно, в качестве основных групп требований к программной среде для создания биологически реалистичных моделей нейронов и нейросетей на их основе можно назвать:

1. Развитые функциональные способности программной среды, позволяющие исследователю формировать биологически правдоподобные или произвольные модели нейронов с учетом данных нейробиологии.

2. Решение проблемы обеспечения функционирования моделей нейронов и разрабатываемых нейросетей большой размерности на базе существующих аппаратных комплексов.

В качестве примера решения этих двух задач можно привести разработанную российским предприятием «Тюменское ассоциативных систем объединение» программную инструментальную среду разработки динамических моделей нейронных сетей, сложных систем и искусственного интеллекта «ТАСО Нейроконструктор», которая была специально создана для разработки и функционирования искусственных нейронных сетей на основе сложных биологически правдоподобных или произвольных нейроподобных элементов. Программная инструментальная среда «ТАСО-Нейроконструктор» позволяет исследователю формировать модели нейронов, исходя из своих данных о нейробиологии клетки и иных представлений. Данная инструментальная среда может работать как на базе однопроцессорных или многопроцессорных компьютеров, в том числе персональных, так и на базе кластеров с параллельной архитектурой. При этом программа автоматически распознает доступные ей аппаратные ресурсы и берет на себя управление их использованием.

В качестве примера пользовательских интерфейсов программной инструментальной среды «ТАСО Нейроконструктор» ниже приведем изображения нескольких экранных форм программы (рис. 17.5–17.8).

Рис. 17.5. Общий вид программной инструментальной среды разработки динамических моделей нейронных сетей, сложных систем и искусственного интеллекта «ТАСО Нейроконструктор». Рабочая область редактора нейросетей на фоне редактора моделей нейронов (В. А. Филиппов, Ф. В. Лактионов, ТАСО, 2007 г.).

Рис. 17.6. В среде «ТАСО Нейроконструктор» может быть обеспечено создание и функционирование нейросетей, включающих более 100 млн. отсеков нейронов (сом, дендритов и аксонных терминалей) с моделью нейронов «ТАСО-2005». Серые точки — сомы. Оранжевым показаны аксоны, а синим — дендриты нейронов (В. А. Филиппов, Ф. В. Лактионов, ТАСО, 2007 г.).

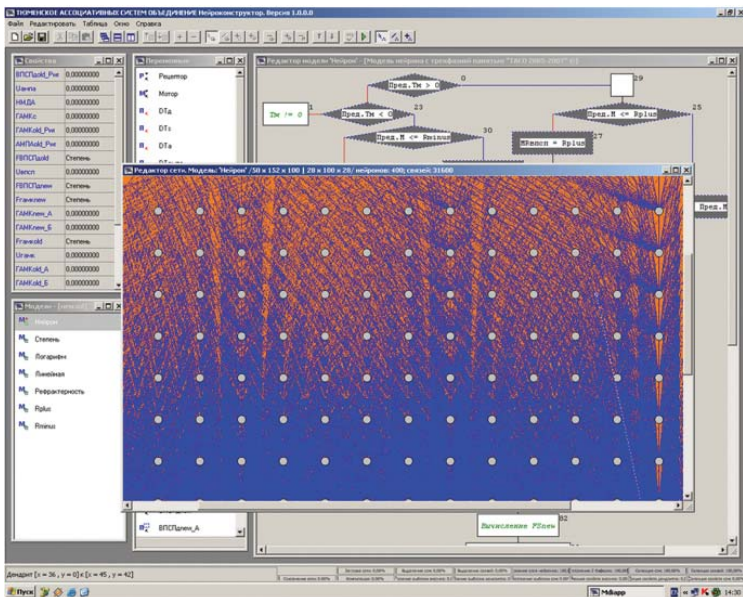


Рис. 17.5.

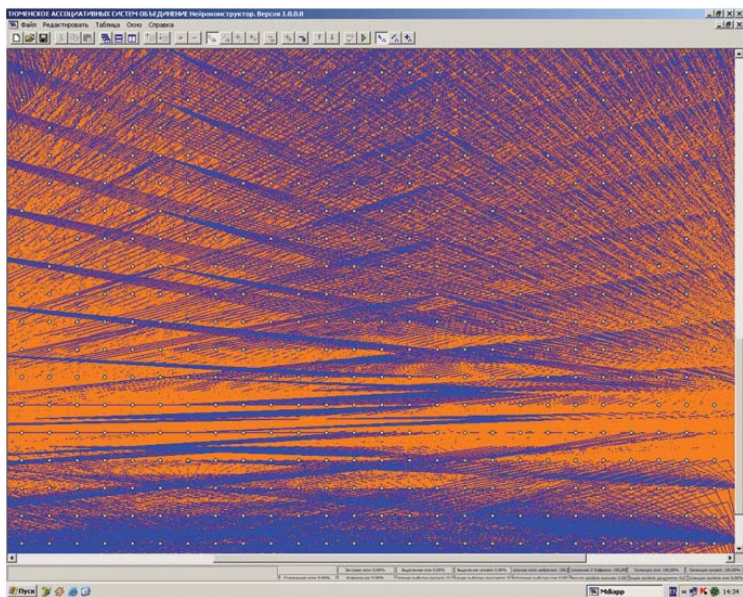


Рис. 17.6.

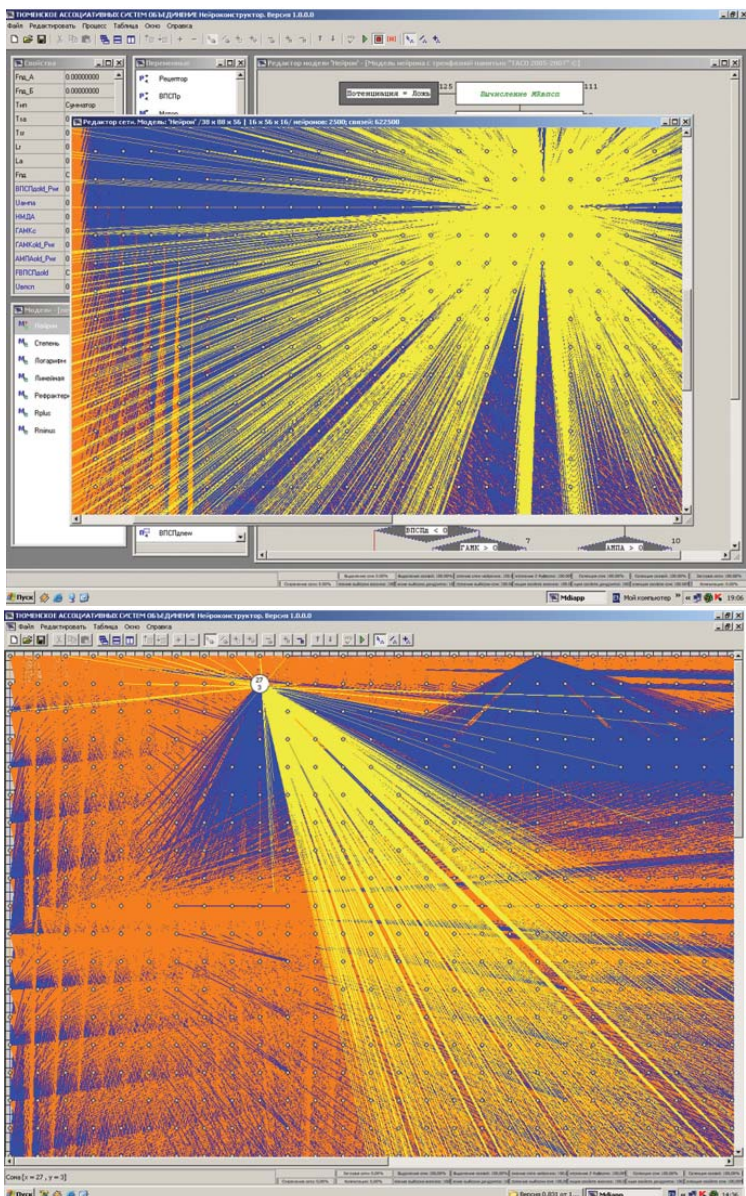


Рис. 17.7. Желтым выделены аксоны одного из нейронов сети (В. А. Филиппов, Ф. В. Лактионов, ТАСО, 2007 г.).

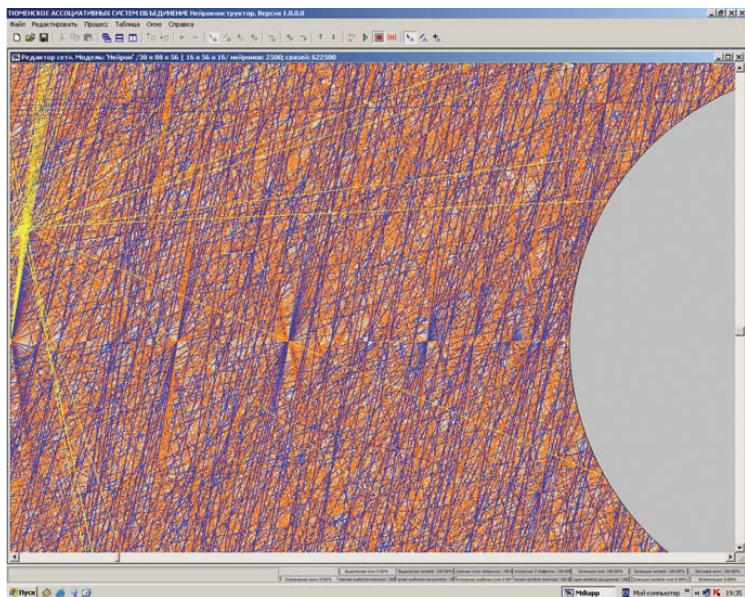


Рис. 17.8. Даже при большом увеличении видна высокая плотность аксон-дендритных связей в сети. Серая окружность — сома нейрона. Желтым выделены связи, проходящие через одну точку рабочей области редактора сетей (В. А. Филиппов, Ф. В. Лактионов, ТАСО, 2007 г.).

Выводы

- Биологически правдоподобные (реалистичные) модели обработки сигналов нейроном создаются в целях использования моделируемых функциональных способностей нервных клеток для создания искусственных интеллектуальных нейросетевых систем.
- В биологически правдоподобных моделях обработки сигналов в нейроне может опускаться моделирование части протекающих в клетках процессов, не связанных с обработкой сигналов, например, реакций, обеспечивающих жизнедеятельность клетки.
- Важнейшей особенностью биологически правдоподобного моделирования обработки сигналов нейроном следует признать отражение в модели нейрона биохимического каскада событий, связанных с постепенным формированием следа памяти в клетке — краткосрочных, среднесрочных и долгосрочных фаз памяти. В рамках таких моделей

должны учитываться такие явления, как фасилитация и формирование кальциевого микродомена в аксонной терминали, диффузия медиатора и его взаимодействие с рецепторами постсинаптической мембраны, фосфорилирование постсинаптических рецепторов и формирование постсинаптических потенциалов, синтез рецепторов различных медиаторов, структурные изменения в аксонной терминали пресинаптического нейрона и другие. Важным свойством таких моделей является моделирование нейрогенеза, позволяющего обеспечить разнообразные структурные изменения самих нейронов и создаваемых на их основе искусственных нейросетей.

- Как правило, биологически правдоподобные модели нейронов являются отсековыми моделями и включают в себя подмодели дендритов, сомы и аксонных терминалей.

- По форме такие модели обычно представляют собой систему из многих уравнений.

- Обычно более сложная модель нейрона с биологически правдоподобным моделированием обработки сигналов может быть редуцирована до простой формальной модели нейрона путем обнуления ряда коэффициентов.

- Биологически правдоподобные модели обработки сигналов нейроном более ресурсоемки, чем простые формальные модели в части использования средств компьютерной техники. При их создании приходится обеспечивать моделирование существенно важных способностей нейрона к обработке сигналов с учетом возможностей имеющихся аппаратных средств.

- Основными требованиями к программной среде для создания биологически реалистичных моделей нейронов и нейросетей на их основе являются (1) развитые функциональные способности программной среды, позволяющие исследователю формировать биологически правдоподобные или произвольные модели нейронов с учетом данных нейробиологии, (2) поддержка данным программным обеспечением разработки и функционирования моделей нейронов и нейросетей большой размерности на базе существующих аппаратных комплексов.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Николлс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А. От нейрона к мозгу. М.: Едиториал УРСС, 2003. 672 с.
2. Хьюбел Д. Глаз, мозг, зрение. М.: Мир, 1990. 239 с.

3. Роуз С. Устройство памяти. От молекул к сознанию. М.: Мир, 1995. 384 с.
4. Бамбиндра В. П., Брагина Т. А., Ионов И. П., Нуртдинов Н. Р. Структура и модели нейронных комплексов головного мозга. Л.: Наука, 1988. 96 с.
5. Жданов А. А. Автономный искусственный интеллект. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2008. 359 с.

Дополнительная

1. Wang Z., Edwards J. G., Riley N., Provance D. W., Karcher R., Li X., Davison I. G., Ikebe M., Mercer J. A., Kauer J. A., Ehlers M. D. Myosin Vb Mobilizes Recycling Endosomes and AMPA Receptors for Postsynaptic Plasticity // *Cell*. 2008. 31 October. Volume 135, Issue 3. P. 535-548.
2. Gelbard-Sagiv H., Mukamel R., Harel M., Malach R., Fried I. Internally Generated Reactivation of Single Neurons in Human Hippocampus During Free Recall // *Science*. 2008. October, 3. Vol. 322. № 5898. P. 96-101.

Глава 18. ПОРТРЕТНЫЕ МОДЕЛИ НЕЙРОНОВ

Портретные модели нейронов создаются для максимально точного воспроизведения структуры нервной клетки и протекающих в ней процессов. Реализация таких моделей на базе компьютерных программно-аппаратных комплексов стала эффективным инструментом исследований нейроцитов, отображения и систематизации динамики биохимических реакций и структурных преобразований в живых клетках. Большая размерность таких моделей требует использования значительных машинных ресурсов, но развитие средств компьютерной техники в последние десятилетия позволило начать реализацию нескольких крупных проектов создания портретных моделей нейрона и нейросетевых структур, имеющихся у живых организмов.

Целью создания портретных моделей нейронов («электронный нейрон», нейрон *in silico*) является максимально точное воспроизведение структуры нервной клетки и протекающих в ней процессов. Как правило, такие модели включают в себя подмодели:

- структурной организации поверхностной мембраны и геометрии клетки и внутриклеточных образований;

- молекулярной организации клетки и внутриклеточных образований;

- биофизических процессов и биохимических каскадов реакций, протекающих в клетке, включая процессы, связанные с поддержанием жизнедеятельности и метаболизма клетки, с развитием клетки и генетической регуляцией этого развития, а также с выполнением видоспецифических функций клетки, например, с обработкой сигналов нейронами;

- межклеточных соединений и межклеточного взаимодействия, включая как прямые, так и диффузные пути.

Большинство портретных моделей нервных клеток в своей основе представляют собой системы обыкновенных дифференциальных уравнений, насчитывающие многие сотни и тысячи уравнений, переменных и параметров. При этом в любом случае производится необходимое упрощение модели путем понижения ее размерности (Апонин Ю. М., Апонина Е. А., 2007, с. 348). Вследствие большой сложности протекающих в клетке процессов портретные модели клетки нельзя представить в виде статических описаний, они могут быть созданы лишь как

динамические модели сложных систем, реализованные в виде компьютерных программных или программно-аппаратных комплексов. В силу значительной ресурсоемкости таких моделей их развитие стало возможным, по сути, лишь в последнее десятилетие, с появлением высокопроизводительных образцов электронно-вычислительной техники. Сегодня в мире существует уже несколько таких крупных моделей, в том числе представленных как коллективно заполняемые базы данных в сети Интернет (Лажно В. с соавт., 2007, с. 361-376).

Одним из первых серьезных проектов комплексного портретного моделирования клетки на молекулярном уровне в виде программно-математической модели стал проект «Электронная клетка» (E-CELL), начатый в 1996 г. лабораторией биоинформатики Keio University (<http://www.e-cell.org/ecell>) и продолженный в рамках созданного на ее базе Института передовых биологических исследований (Institute for Advanced Biosciences at Keio University) под руководством Мазару Томиты (Masaru Tomita). Одним из направлений проекта стало создание «электронного нейрона» (E-Neuron) и моделирование обработки сигналов в нервных клетках (см.: Дополнительная литература, 4).

В целом проект сосредоточен на моделировании каскадов клеточных биохимических реакций и синтеза белков в результате экспрессии генов, а также на создании программного обеспечения для разработки и функционирования этих моделей — программной среды E-Cell. Данная среда развивается как объектно-ориентированная платформа, на которой могут быть реализованы различные алгоритмы моделирования и их комбинации. Большое внимание уделяется вопросам визуализации клеточной структуры и протекающих в клетке процессов (см.: Дополнительная литература, 5). Первоначально в рамках проекта моделировались наиболее простые клетки с минимальным набором генов и, по выражению авторов модели, «минимальным клеточным метаболизмом». В модели были воспроизведены биохимические реакции, связанные с синтезом различных белков при участии РНК. В дальнейшем в рамках проекта были построены модели нейрона, человеческого эритроцита, *E.coli* и клеток миокарда. В настоящее время в проекте участвуют научные организации Японии и США.

Другим известным проектом по моделированию клетки является Virtual Cell (VCell), программный комплекс, созданный The National Resource for Cell Analysis and Modeling (NRCAM). Данный ресурс представляет собой программную платформу для моделирования клеточных процессов, которое связывает биохимические и электрофизиологи-

ческие данные, описывающие отдельные реакции, с экспериментальными микроскопическими данными, показывающими их внутриклеточную локализацию (<http://vcell.org>). Для разработки модели структурной организации клетки, как правило, используются апертурные методики. Например, в проекте создания электронной модели структуры клетки Европейской лаборатории молекулярной биологии (European Molecular Biology Laboratory — EMBL), реализованном под руководством Клода Антони (Claude Antony), с помощью электронного микроскопа было сделано множество последовательных фотографий различных частей клетки под разными углами, на основе которых затем было реконструировано трехмерное изображение клетки и внутриклеточных структур (Höög J. et al., pp. 349-361). В некоторых проектах миниатюрные электронные микроскопы имплантируются в ткани мозга для получения динамических изображений. Полученная трехмерная карта клетки служит в дальнейшем для привязки к различным участкам клетки информации о структурах и процессах, происходящих в клетке.

В настоящее время разработкой портретных моделей клеток различных типов и входящих в их состав молекулярно-генетических систем занимается целый ряд зарубежных (см.: Дополнительная литература, 6-24) и российских (Ратушный А.В. с соавт., 2005, с. 232-261; <http://www.mathcell.ru>) организаций.

Для поддержки математического моделирования клеток приняты различные *стандарты представления биологических данных*, которые делают возможным структурирование данных и взаимодействие различных приложений и сервисов. Первым стандартом для представления сетей биохимических реакций был стандарт SBML (Systems Biology Markup Language), предназначенный для записи метаболических схем, путей передачи сигналов в клетках, регуляторных сетей. Создатели стандарта поместили ряд известных к тому времени в литературе метаболических сетей в библиотеку моделей SBML. Разработчики стандарта дополнили его программным пакетом MathSBML для работы с SBML-моделями. Он позволяет визуализировать модели в формате SBML, конвертировать их в системы обыкновенных дифференциальных уравнений для расчета и визуализации результатов в среде Mathematica, переводить модели в другие форматы (Лахно В. с соавт., 2007).

Наиболее крупным проектом разработки «портретных» моделей нейронов и их соединений в настоящее время стал Blue Brain Project, начатый летом 2005 г. Швейцарским федеральным технологическим

институтом в Лозанне (EPFL) и американской компьютерной корпорацией IBM в рамках реализации совместного соглашения (руководитель — Генри Маркграм (Henry Markram) — директор Института мозга и сознания EPFL). Целью Blue Brain Project является детальное моделирование отдельных нейронов и образуемых ими типовых колонок новой коры мозга — неокортикальных колонок (NCC). Участники проекта учитывают тот факт, что в коре нейроны организованы в элементарные функциональные единицы — NCC, имеющие порядка 0,5 мм в диаметре и 2 мм высотой. Каждая такая колонка содержит около 10 тыс. нейронов со сложной, но упорядоченной структурой связи между собой и с внешними по отношению к колонке нейрогруппами. Фактологической базой для моделирования послужили данные о морфологии и динамике активности нейронов крысы, другие данные о физиологии нейрона, полученные за прошедшие десятилетия исследований нервных клеток.

В модели нейрона в рамках Blue Brain Project учитываются различия между типами нейронов, пространственная геометрия нейронов (рис. 18.1., см.: Дополнительная литература, 26), распределение ионных каналов по поверхности мембраны клетки и другие параметры нейронов-прототипов. Разработчики модели отмечают, что разнообразие типов нейронов, объединенных в нейрогруппу, весьма важно для реализации когнитивных функций данной группы, причем каждый тип нейронов присутствует в определенных слоях колонки, а пространственное расположение, плотность и объем распределения нейронов различных типов служат основой упорядоченного распространения активности по сети в целом. В рамках модели также принимается во внимание, что точная форма и структура нейрона влияют на его электрические свойства и возможность соединения с другими нейронами, а электрические свойства нейрона определены в большой степени разнообразием ионных каналов.

Для трехмерного моделирования нейрогрупп в рамках Blue Brain Project используется параллельный суперкомпьютер Blue Gene производства корпорации IBM с 8192 процессорами, который позволяет моделировать распространение электрической активности внутри неокортикальной колонки в режиме реального времени. При этом за одну секунду моделирования система обрабатывает 100 гигабайт данных, связанных с моделированием структуры межнейронных связей, и еще 150 гигабайт данных, связанных с моделированием прохождения электрического импульса через колонку.

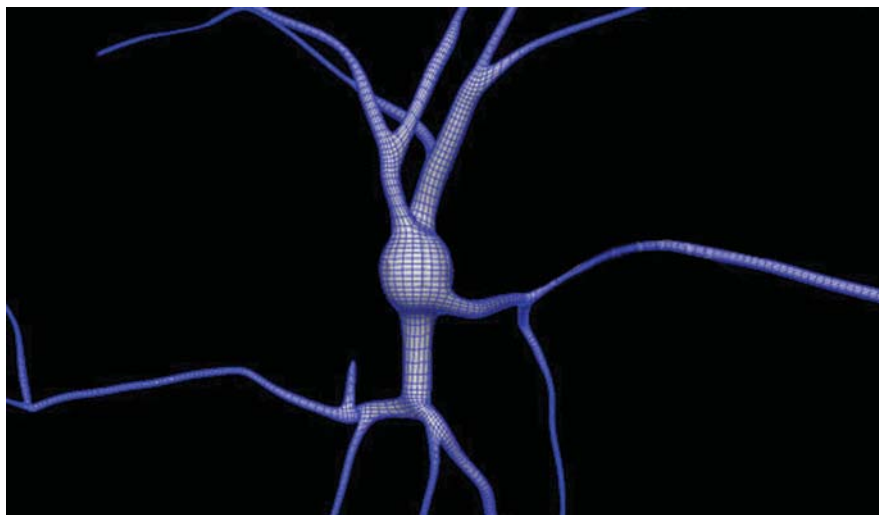


Рис 18.1. Моделирование геометрии поверхности отдельного нейрона (ВВР/EPFL, 2007 г.).

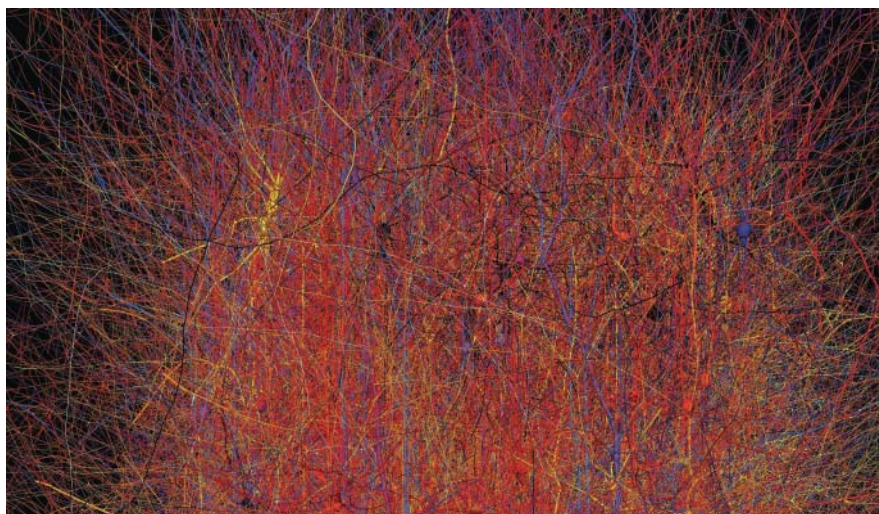


Рис. 18.2. Визуализация фрагмента неокортикальной колонки. Различные условные цвета отражают различные мембранные потенциалы (ВВР/EPFL, 2007 г.).

К началу 2007 г. участниками проекта была построена модель неокортикальной колонки крысы (рис. 18.2., см.: Дополнительная литература, 27), состоящей из десяти тысяч биологически правдоподобных моделей нейронов с приблизительно тридцатью миллионами синапсов между ними (<http://bluebrain.epfl.ch>).

Авторами отмечаются следующие основные результаты реализации первой фазы проекта:

1) разработана новая методология моделирования для автоматизированного построения связей между нейронами и распространения активности в рамках модели неокортикальной колонки на основе нейробиологических данных, а также соответствующее программное обеспечение с интерфейсами визуализации;

2) создана технология калибровки и оценки получаемых моделей на основе критерия соответствия модели биологическому прототипу нейронов и нейрогрупп;

3) разработана модель неокортикальной колонки мозга, полностью построенная на основе биологических данных.

Авторы отмечают, что полученные в рамках проекта клеточные модели нейронов и модель колонки в целом позволяют непосредственно соотносить моделируемые процессы распространения активности с аналогичными процессами в биологической колонке-прототипе.

На будущее в рамках Blue Brain Project поставлены задачи моделирования молекулярных взаимодействий в нейроне, биохимических каскадов, включения в модель процессов генетической регуляции изменений нейронов, в том числе связанных с обработкой нейронами различных сигналов, с регулированием воздействия на клетку различных специфических нейромедиаторов, а также сборки из многих неокортикальных колонок моделей более крупных функциональных областей мозга млекопитающих. По мнению исследователей, Blue Brain Project сыграет важную роль в развитии наших представлений о функционировании и дисфункциях нейронов и нейрогрупп, в нейрофармакологии, в борьбе с широким спектром неврологических и психиатрических болезней, в разработке систем искусственного интеллекта (<http://bluebrain.epfl.ch>).

В целом Blue Brain Project является лишь частью исследовательской программы корпорации IBM по созданию программных и аппаратных моделей нейрона и живых нейросетей. Помимо исследовательского центра IBM в Цюрихе и Швейцарского федерального технологического института в Лозанне, в программе участвуют IBM

Almaden Research center, исследовательский центр IBM им. Т. Дж. Уотсона, а также исследовательские центры IBM в Аустине, Пекине, Индии, Хайфе и Токио.

Во второй половине 2007 г. исследователи Джеймс Фрай (James Fyfe), Раджагопал Анантанарааянан (Rajagopal Ananthanarayanan) и Дхармендра С. Модха (Dharmendra S. Modha) из IBM Almaden Research center, используя суперкомпьютер BlueGene/L с 4096 процессорами и оптимизированную ими модель нейрона, смогли смоделировать работу уже 8 млн. нейронов коры мыши, причем на каждый нейрон в среднем приходилось 6300 синапсов (Fyfe J. et al., 2007).

Основываясь на результатах, полученных в рамках Blue Brain Project, а также на упомянутых работах по моделированию функциональных областей и путей обработки информации в нейронных сетях мозга мыши, в ноябре 2008 г. IBM заявила о начале реализации амбициозного **проекта разработки принципиально новой архитектуры аппаратной вычислительной системы, строящейся на принципах организации живого мозга**, причем в сочетании с присущим реальному мозгу низким расходом энергии и компактным размером. Официальное название нового заявленного IBM проекта — «Создание компьютера, способного к познанию с помощью синаптроники и высокопроизводительных вычислений» («Cognitive Computing via Synaptronics and Supercomputing») (C2S2).

К реализации проекта IBM привлекла команду специалистов мирового класса в области нейробиологии, вычислительной техники, нанотехнологий и материалов во главе с доктором Дхармендрой Модхой (Dharmendra Modha), руководителем проекта «Когнитивная компьютерная инициатива ИБМ» (IBM's cognitive computing initiative) в сфере передовых разработок искусственных когнитивных систем. Идея такого проекта появилась в IBM Almaden Research center в сентябре 2005 г., а официально проект «Когнитивная компьютерная инициатива ИБМ» был основан в 2006 г. с целью объединения усилий лучших исследователей в передовых научно-технических исследованиях.

Основу команды создания новой компьютерной архитектуры на принципах организации живого мозга также составили профессор Квабена Боаэн (Kwabena Boahen), Х.-С. Филип Вонг (H.-S. Philip Wong) и Брайен Уонделл (Brian Wandell) из Стэнфордского университета, профессор Галайо Тонони (Gulio Tononi) из университета Висконсина-Мэдисона, профессор Раджит Манохар (Rajit Manohar) из Корнуэльского университета, профессор Стефано Фузи (Stefano Fusi) из меди-

цинского центра Колумбийского университета и профессор Кристофер Келло (Christopher Kello) из Калифорнийского университета. От IBM Almaden Research center в состав группы вошли доктор Стюарт Паркин (Stuart Parkin), Балент Керди (Bulent Kurdi), Дж. Кампбелл Скотт (J. Campbell Scott), Пол Маглайо (Paul Maglio), Симоне Раух (Simone Raoux), Раджагопал Анантанараьянан (Rajagopal Ananthanarayanan) и Рагевиндра Сингх (Raghavendra Singh). От исследовательского центра IBM им. Т. Дж. Уотсона в проекте примут участие доктор Чанг Лам (Chung Lam) и доктор Бипин Рейджндран (Bipin Rajendran). Наряду с ними в проекте задействовано много других исследователей и студентов.

В финансировании проекта принимает участие Агентство перспективных оборонных исследовательских программ США (Defense Advanced Research Projects Agency (DARPA) в рамках первой фазы реализации проекта агентства «Системы DARPA нейроморфной пластичной масштабируемой электроники» (DARPA's Systems of Neuromorphic Adaptive Plastic Scalable Electronics (SyNAPSE) initiative»). Участие DARPA предусматривает финансирование поданной IBM заявки в течение девяти месяцев на исследования в сфере изучения и моделирования синапсов, разработки новых материалов для их аппаратной реализации, нейросетей и их моделирования на базе суперкомпьютерной техники (см.: Дополнительная литература, 30).

Как известно, исследования IBM в области моделирования нейросистем имеют давнюю традицию: еще в 1956 г. в корпорации была разработана первая модель фрагмента нейрокортекса из 512 нейронов. Сегодня участники проекта отмечают, что если раньше исследования в области искусственного интеллекта и моделирования нейросистем ставили перед собой, в лучшем случае, задачу воспроизведения отдельных архитектур живых нейросетей, то с накоплением нейробиологических данных теперь появляются возможности моделирования мозга.

При принятии решения о реализации проекта C2S2 IBM исходила из того, что количество цифровых данных в мире ежегодно увеличивается на 60%, открывая потенциальные возможности к ускорению развития в самых разных сферах человеческой деятельности. В то же время без возможности анализировать эту информацию в режиме реального времени значительная часть ценности этой информации теряется, а отсутствие возможности к быстрому анализу и учету получаемой информации замедляет научно-технические разработки и прогресс общества в целом.

Принимая во внимание актуальность решения этих задач, ИВМ планирует создать систему, способную к быстрому пониманию и анализу информации, получаемой из самых различных источников информации, включая изображения и потоки видеоданных. Создаваемый компьютер должен быть способен к познанию и действовать как «глобальный мозг», быстро анализируя огромные потоки информации и помогая людям, компаниям и правительству принимать быстрые и эффективные решения.

При этом ИВМ декларирует готовность полностью отказаться от традиционной архитектуры и парадигмы компьютера как программируемой машины, развивающейся с 40-х гг. прошлого века, и, взяв за образец организацию живого мозга, построить новую систему как аппаратную нейросеть с синаптическими соединениями между искусственными нейронами. Ключевой элемент классической компьютерной архитектуры (часто называемой фон-неймановской) — разделение памяти и вычисления. Это приводит к появлению узкого места при обмене данными между процессором и памятью в такой вычислительной системе. В живом мозге, напротив, и «вычисление», и память объединены в рамках одного нейрона, в нем нет никаких «узких мест». Участниками проекта отмечается, что более шестидесяти лет электроника развивалась по пути создания программируемых машин, которые господствуют сегодня в сфере обработки информации в мире. При этом эти машины имеют ограниченную полезность в условиях реального мира, которые требуют наличия интеллекта, не реализованного в алгоритмической вычислительной парадигме. По сравнению с биологическими системами современные программируемые машины намного порядков менее эффективны. Программа SyNAPSE направлена на отказ от парадигмы программируемых машин и стремится к определению путей создания интеллектуальных обучающихся и самообучающихся машин. В результате проекта C2S2 должна появиться принципиально новая вычислительная архитектура, а создаваемая система должна быть способна к длительному обучению, распознаванию образов, постоянному восприятию новой текстовой и графической информации из самых различных источников, в том числе многозначных и контекстно-зависимых данных, а также быть способной к поведению в сложных окружающих условиях реального мира.

В то же время руководители проекта проводят грань между проектом C2S2 и парадигмой «старого доброго искусственного интеллекта

(ИИ)». Отмечается, что работы в рамках классического ИИ были сосредоточены на разработке отдельных алгоритмов работы машин, как правило, без их соотнесения с живыми прототипами. Напротив, новая парадигма когнитивных вычислений требует разработки способных к познанию вычислительных устройств как целостных систем, воспроизводящих и микроструктуру нейронов и синапсов, и макроорганизацию, архитектуру путей обработки информации в нейронных сетях мозга, обеспечивающих широкий круг способностей. Воспроизводящие работу живых нейро-синаптических сетей spiking-вычисления представляются ключом к успеху проекта.

Дхармендра Модха видит три причины своевременности начала проекта C2S2. Во-первых, к настоящему времени нейробиология уже располагает достаточным количеством данных и представлением об организации обработки информации живым мозгом, которые могут быть смоделированы в искусственных нейросистемах. Во-вторых, созданы высокопроизводительные вычислительные системы (суперкомпьютеры), способные обеспечить разработку и функционирование крупномасштабных моделей с чрезвычайно большим числом элементов. В-третьих, успехи современных нанотехнологий привели к тому, что могут быть созданы модели синапсов и нейронов в виде искусственных аппаратных устройств на молекулярном уровне.

Руководители проекта отмечают, что в центре всех исследований по проекту C2S2 будет находиться синапс, обеспечивающий, благодаря своей пластичности, формирование индивидуального опыта, а проект в целом будет направлен именно на создание программных и аппаратных моделей синапса. Планируется разработка моделей нейросетей с числом и плотностью распределения синапсов, сравнимым с соответствующими параметрами у живых организмов. В представлении Модхи, мозг скорее представляет собой не нейронную, а синаптическую сеть, а мышление является результатом биохимической организации (wetware) мозга. Соответственно, участники проекта нацелены на возможно более точное воспроизведение (моделирование) организации функциональных областей реального мозга животного, что является, по их мнению, кратчайшим путем к созданию компьютерных устройств, сопоставимых по их способностям и надежности с живым мозгом.

Начальные исследования в 2008-09 гг., в течение первых 9 месяцев реализации проекта C2S2, сосредоточатся на том, чтобы продемонст-

рировать низкое энергетическое потребление искусственных синапсов в составе путей обработки информации в создаваемых нейронных сетях, а также раскрыть некоторые функциональные нейросетевые схемы мозга. Долгосрочные задачи проекта состоят в том, чтобы создать компьютер, способный к обучению и познанию на уровне более-менее развитого млекопитающего и имеющий низкое потребление энергии и компактный размер.

Официально заявленная ИВМ конечная цель проекта определена как *«создание интеллектуальных компьютеров, способных к самостоятельному усвоению новых знаний, получаемых из различных источников, распознаванию образов, продолжительному обучению, к пониманию контекстуального значения многозначной информации для решения сложных проблем в условиях реального мира на основе своих способностей к восприятию, действиям и познанию»* (<http://p9.hostingprod.com/@modha.org>).

В случае успеха проекта, по мнению его участников, родится принципиально новый класс искусственных когнитивных систем, новая парадигма вычислительной архитектуры с многочисленными практическими приложениями во всех областях человеческой деятельности, а возможно, появятся и целые новые отрасли промышленности.

Как мы видим, в передовых научных центрах мира сегодня уже ставятся задачи портретного моделирования не только отдельных нейронов, но и целых функциональных областей коры мозга. Освещение вопросов организации сетевых архитектур живого мозга, впрочем, требует отдельного издания.

В завершении обзора следует отметить, что к настоящему времени математическое моделирование клетки и внутриклеточных процессов как динамических сложных систем стало одним из наиболее эффективных инструментов современных биологических исследований. Модели клеток, в том числе нейронов, применяются в молекулярной биологии при описании динамики макромолекул и биомолекулярных возбуждений, в теории молекулярно-генетических систем, в биофизике и биохимии, молекулярной генетике, в биотехнологии, радиобиологии и фармакокинетике (Апонин Ю. М., Апонина Е. А., 2007, с. 355). В будущем значение портретного моделирования нейронов будет возрастать в рамках всех научных дисциплин, связанных с изучением живых нейросистем и разработкой интеллектуальных технических систем, основанных на нейросетевых решениях.

Выводы

- Целью создания портретных моделей нейронов («электронная клетка», клетка *in silico*) является максимально точное воспроизведение структуры клетки и протекающих в ней процессов.

- Как правило, портретные модели включают в себя подмодели структурной организации клетки и внутриклеточных образований, молекулярной организации клетки и ее основных образований, биофизических процессов и биохимических каскадов реакций, протекающих в клетке, в том числе генетического регулирования развития клетки и выполнения видоспецифических функций клетки, а также межклеточного взаимодействия.

- Большинство портретных моделей нервных клеток в своей основе представляют собой системы математических уравнений, насчитывающие многие сотни и тысячи уравнений, переменных и параметров.

- Вследствие большой сложности протекающих в клетке процессов портретные модели клетки нельзя представить в виде статических описаний, они могут быть созданы лишь как динамические модели сложных систем, реализованные в виде компьютерных программных или программно-аппаратных комплексов.

- В настоящее время ведущими научными центрами начато несколько крупных совместных проектов создания портретных моделей нейронов и нейросетевых структур, имеющих реальные прототипы у живых организмов.

Цитированная литература

Рекомендуемая

1. Апонин Ю. М., Апонина Е. А. Иерархия моделей математической биологии и численно-аналитические методы их исследования // Математическая биология и биоинформатика. 2007. Том 2. №2. С. 347-360.

2. Лахно В., Назипова Н., Ким В., Филиппов С. и др. Информационно-вычислительная среда Mathcell для моделирования живой клетки // Математическая биология и биоинформатика. 2007. Т. 2. № 2. С. 361-376.

3. Ратушный А. В., Лихошвай В. А., Ананько Е. А., Владимиров Н. В. и др. Новосибирская школа системной компьютерной биологии: исторический экскурс и перспективы развития // Вестник ВОГИС. 2005. Т. 9. С. 232-261.

Дополнительная

1. <http://www.e-cell.org/ecell>

2. <http://sciencelinks.jp/j-east/article/200517/000020051705A0633148.php>

3. <http://ecell3d.iab.keio.ac.jp/features.html#section4>
4. <http://vcell.org>
5. Höög J., Schwartz C. Noon A., O'Toole E., Mastronarde D., McIntosh J., Antony C. Organization of Interphase Microtubules in Fission Yeast Analyzed by Electron Tomography. *Developmental Cell*. Volume 12. Issue 3. P. 349-361.
6. E-cell (<http://www.e-cell.org>).
7. CyberCell (<http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/CCDB>).
8. SiliconCell (<http://www.bio.vu.nl/hwconf/Silicon/index.html>).
9. Systems Biology Research Group (<http://gcrq.ucsd.edu>).
10. Arkin Laboratory for Dynamical Genomics (<http://gobi.lbl.gov>).
11. Kitano Symbiotic Systems Project (<http://www.symbio.jst.go.jp>).
12. VTT Biotechnology (<http://sysbio.vtt.fi>).
13. Biosystems Group at UCSF (<http://biosystems.ucsf.edu>).
14. Institute for Systems Biology (<http://www.systemsbiology.org>).
15. Systems Biology Resource (<http://www.systems-biology.org>).
16. NRCAM: The National Resource for Cell Analysis and Modeling (<http://www.nrcam.uchc.edu>).
17. Plant Systems Biology Resource (<http://www.psb.rug.ac.be/>).
18. Cellular Networks at Notre Dame (<http://www.nd.edu/~networks/cell>).
19. BioPathways Consortium (<http://www.biopathways.org>).
20. SBML: The Systems Biology Markup Language (<http://www.sbml.org>).
21. CellML (<http://www.cellml.org>).
22. Cellnomatica (<http://www.cellnomica.com>).
23. Languages for Systems Biology (<http://www.luca.demon.co.uk/BioComputing.htm>).
24. Bio-IT World (<http://www.bio-itworld.com/resources/systems>).
25. Портал «Математическая клетка» (<http://www.mathcell.ru>).
26. http://mediatheque.epfl.ch/sv/modules.php?include=view__photo.php&file=index&name=gallery&op=modload&id=gridNeuron_B3_WM&set__albumName=Blue_brain_project
27. http://mediatheque.epfl.ch/sv/modules.php?include=view__photo.php&file=index&name=gallery&op=modload&id=WholeColumn_wm&set__albumName=Blue_brain_project
28. <http://bluebrain.epfl.ch>
29. Frye J., Ananthanarayanan R., Modha D.S. Towards Real-Time, Mouse-Scale Cortical Simulations // *Computational and Systems Neuroscience (COSINE)*. 2007. <http://eugen.leitl.org/postbiota/tt/2007-April/000349.html>
30. <http://www-03.ibm.com/press/us/en/pressrelease/26123.wss>
31. <http://p9.hostingprod.com/@modha.org>

Александров Ю. И., Анохин К. В., Безденежных Б. Н.,
Гарина Н. С., Греченко Т. Н., Латанов А. В.,
Палихова Т. А., Савельев С. В., Соколов Е. Н.,
Тушмалова Н. А., Филиппов В. А., Черноризов А. М.

НЕЙРОН.
ОБРАБОТКА СИГНАЛОВ.
ПЛАСТИЧНОСТЬ. МОДЕЛИРОВАНИЕ

Фундаментальное руководство

Редактор Л. С. Филиппова
Технический редактор Н. Г. Яковенко
Компьютерная верстка Н. В. Рождественская

Подписано в печать 27.11.2008. Тираж 300 экз.
Объем 34,25 печ. л. Формат 60x90/16. Заказ 1045.

Издательство Тюменского государственного университета
625000, г. Тюмень, ул. Семакова, 10