

УДК 612.822.3

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ ПАРНЫМИ ОТВЕТАМИ ПОДТВЕРЖДАЕТ НАЛИЧИЕ ПОЛОЖИТЕЛЬНОЙ ЭФАПТИЧЕСКОЙ ОБРАТНОЙ СВЯЗИ В ЦЕНТРАЛЬНЫХ СИНАПСАХ

© 2003 г. С. В. Кульчицкий, В. В. Максимов, П. В. Максимов,
М. С. Лемак, Л. Л. Воронин

Представлено академиком И.А. Шевелевым 03.12.2002 г.

Поступило 04.12.2002 г.

Согласно гипотезе А.Л. Бызова [1, 2], в возбужденных химических синапсах существует электрическая (эфаптическая) обратная связь (ЭОС) из-за падения потенциала на сопротивлении синаптической щели (R_g), вызванного постсинаптическим током (ПСТ). “Супралинейные” эффекты постсинаптической гиперполяризации [3–6] указывали на существование ЭОС в больших (“перфорированных”) синапсах центральной нервной системы (ЦНС). Однако такие эффекты могли объясняться также снижением потенциалзависимого выделения тормозного передатчика из постсинапса (“химическая” гипотеза). В работах [3–6] использовалась упрощенная (“неквантовая”) модель синапса с количеством мест выброса передатчика $N = 1$. Целью данной работы была критическая проверка гипотезы ЭОС и альтернативной “химической” гипотезы с использованием более реалистичной модели. Проведенное сопоставление предсказаний модели с физиологическими данными опровергает “химическую” гипотезу и дает убедительные данные в пользу существования нового вида обратной связи (ЭОС) в синапсах ЦНС.

Компьютерные эксперименты. Модель разработана в системе Windows и помещена на сайт www.iitr.ru/projects/eq/. Парное облегчение (ПО) реализовано как изменение вероятности выброса передатчика (Pr). В экспериментах параметры

модели варьировали так, чтобы имитировать вероятные свойства синапсов мшистых волокон области СА3 гиппокампа [7, 8], включая N (10–20), Pr (0.04–0.1), R_g (до 1.1 ГОм), а также постоянную времени (100 мс) и величину ПО = ПСТ2/ПСТ1, где ПСТ1 и ПСТ2 – амплитуды первого и второго ПСТ, генерируемых при парной стимуляции. На рис. 1а видно, что в среднем ПСТ2 > ПСТ1, однако в соответствии с пресинаптической природой ПО [7] при отсутствии ЭОС ($R_g = 0$) или без перекрытия ответов (рис. 1а, 1б, 70 мс) корреляции между флуктуирующими амплитудами не было.

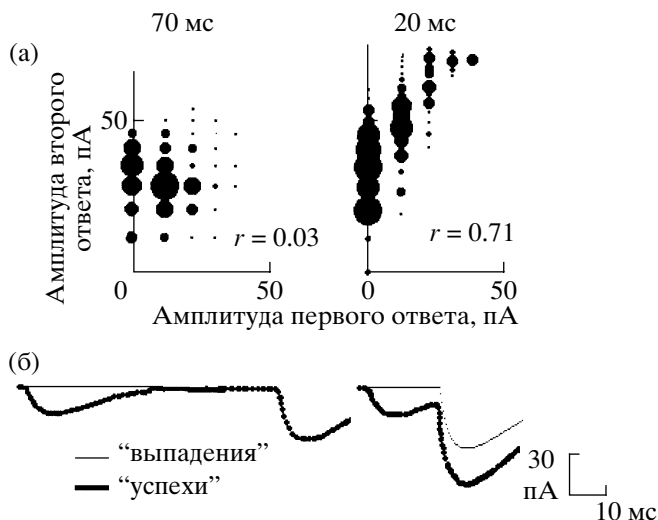


Рис. 1. Корреляция между амплитудами первого и второго возбужденных ПСТ, генерируемых моделью с ЭОС ($R_g = 0.5$ ГОм) при длительном (70 мс) и коротком (20 мс) интервалах между двумя пресинаптическими импульсами (500 пар). На а: диаметр символов пропорционален количеству ПСТ (от 5 до 30 пар на точку); r – коэффициент линейной корреляции. На б: усредненные ПСТ из тех же модельных экспериментов, разделенные на “успехи” и “выпадения” в ответ на первый импульс в паре.

Институт физиологии
Национальной Академии наук
Беларуси, Минск

Институт проблем передачи информации
Российской Академии наук, Москва
Научно-исследовательский институт мозга
Российской Академии медицинских наук, Москва
Институт высшей нервной деятельности и
нейрофизиологии
Российской Академии наук, Москва

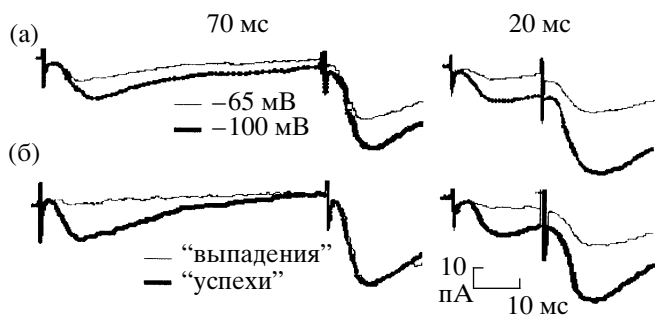


Рис. 2. Корреляция между амплитудами первого и второго возбудительных ПСТ нейронов гиппокампа. а – усредненные ПСТ двух нейронов при разных интервалах между парными стимулами и указанных мембранных потенциалах. б – те же ПСТ при мембранном потенциале -65 мВ, представленные, как на рис. 1б.

Однако при наложении ответов в присутствии ЭОС (рис. 1б, 20 мс) коэффициент линейной корреляции (r) между ПСТ2 и ПСТ1 был значимым (рис. 1а, 20 мс). Исследовалась зависимость r от “коэффициента наложения” $КН = ПСТ1(m)/ПСТ1(s_2)$, где ПСТ1(m) и ПСТ1(s_2) – ПСТ1, измеренные по максимуму и в момент подачи второго стимула соответственно. Оказалось, что $r > 0.2$ при $КН > 0.2$ и $Rg = 0.3–0.6$ ГОм; r достигал $0.5–0.7$ при $КН > 0.5$.

При достаточно низкой Pr наряду с “успехами” (ПСТ1 > 0) возникают “выпадения” ответов (ПСТ1 = 0, если пренебречь фоновым шумом). Наглядной демонстрацией корреляции между ПСТ1 и ПСТ2 является сравнение средних ПСТ2 после “выпадений” первого ответа (ПСТ2_в) с таковыми после “успехов” (ПСТ2_у). Испытания показали, что без ЭОС или при больших межстимульных интервалах (рис. 1б, 70 мс) ПСТ2_у = ПСТ2_в (отношение ПСТ2_у/ПСТ2_в = 1). Однако при наличии ЭОС ($Rg > 0$) и наложении ответов ПСТ2_у/ПСТ2_в > 1 (рис. 1б, 20 мс). Наблюдалась прямая зависимость между ПСТ2_у/ПСТ2_в и $КН$. Так, при $N = 15$ и $Pr = 0.047$ корреляция была близка к линейной с r между 0.99 и 0.86 при $Rg = 0.3–0.6$ ГОм.

Физиологические опыты. Для проверки предсказанной зависимости ПСТ2 от ПСТ1, не известной ранее, записывались возбудительные ПСТ пирамидных нейронов области СА3 при стимуляции слоя мшистых волокон. Опыты ставились на срезах гиппокампа крыс (возраст 12–18 дней) по методике “точечной регистрации от целой клетки” в режиме фиксации потенциала [3–6]. Для увеличения точности измерений при наложении ПСТ срезы на 15 мин помещались в раствор канавалина А (0.05 мг/л), что удлиняло ПСТ [9]. Парные (интервалы 20–70 мс) стимулы (раз в 8–16 с, 75–600 пар для одного нейрона) подбирались

так, чтобы вызвать “минимальные” ПСТ с выпадениями. Достоверность различий оценивалась по t -критерию Стьюдента (уровень значимости $P < 0.05$).

На рис. 2а представлены усредненные ПСТ (25–70 пар) при двух мембранных потенциалах. Видно хорошо выраженное ПО и более чем двукратное (“супралинейное”) возрастание ПСТ1 при гиперполяризации (-100 мВ), ожидаемое для синапсов с ЭОС [3–6]. На рис. 2б первые ответы разделены на наименьшие по амплитуде (“выпадения”) и остальные (“успехи”). Когда ответы не перекрывались (рис. 2б, 70 мс), ПСТ2_у и ПСТ2_в не различались, однако при их наложении (рис. 2б, 20 мс) ПСТ2 после “успехов” (ПСТ2_у) был значительно больше, чем после “выпадений” (ПСТ2_в), выявляя положительную корреляцию между ПСТ2 и ПСТ1. В 4 из 11 опытов ответы не перекрывались ($КН < 0.08$) и отношение ПСТ2_у/ПСТ2_в было близким к 1 (1.03 ± 0.02 , здесь и ниже даны средняя \pm ошибка средней). Напротив, в 7 опытах с $КН = 0.2–0.8$ (0.54 ± 0.05) это отношение превышало 1 (1.55 ± 0.06 , $P < 0.01$) и в 6 из них было > 1.33 (до 2.0), как это предсказано для синапсов с ЭОС. Наблюдалась сильная корреляция между ПСТ2_у/ПСТ2_в и $КН$ ($r = 0.91$, $P < 0.001$, $n = 11$), близкая к полученной на модели при $Rg = 0.3–0.4$ ГОм.

Таким образом, моделирование показало, что при наложении двух ПСТ, генерируемых синапсом с ЭОС, ПСТ1 и ПСТ2 коррелируют, однако корреляция отсутствует, когда ПСТ не перекрываются. Предсказана положительная корреляция между степенью наложения двух ПСТ и отношением ПСТ2_у/ПСТ2_в. Эти предсказания подтвердились в физиологических опытах, что свидетельствует о существовании ЭОС в синапсах ЦНС. При достаточно реальных параметрах модели наилучшее соответствие между экспериментом и теорией получилось при $Rg = 0.3–0.4$ ГОм, что близко к оценке Rg исследованных синапсов [5]. Ранее наличие ЭОС было предположено на основании “супралинейных” эффектов постсинаптической гиперполяризации [3–6]. Такие эффекты наблюдались во всех случаях, когда выявлялась корреляция между ПСТ2 и ПСТ1, что дополнительно подтверждает гипотезу ЭОС. Корреляция между ПСТ1 и ПСТ2 опровергает альтернативную (“химическую”) гипотезу, так как фиксация потенциала в наших опытах исключает потенциалзависимые эффекты. Даже если фиксация была неполной, выделение гипотетического тормозного передатчика должно усиливаться при генерации первого ПСТ, и второй ПСТ не должен возрастать. Исследованные синапсы формируются в процессе онтогенеза, однако в новой коре число перфорированных синапсов возрастает при обучении [10], а в других областях гиппокампа – так-

же при долговременной потенциации, являющейся экспериментальной моделью памяти [2, 7]. В таком случае формирование ЭОС представляется одним из вероятных механизмов хранения следа памяти. Наши данные показывают также, что ЭОС не только регулирует текущую обработку информации при медленных сдвигах постсинаптического потенциала [6], но и повышают *P_r* при высокочастотной (пачечной) активности нейронов, характерной для гиппокампа, например, при поведении, связанном с когнитивными функциями [11].

Авторы приносят благодарность Д.А. Сахарову и Т.Л. Дьяконовой за ценные советы и любезное предоставление части необходимых веществ.

Работа выполнена при финансовой поддержке INTAS, Wellcome Trust и РФФИ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Byzov A.L., Maximov V.V.* // *Vision. Res.* 1996. V. 36. P. 4077–4087.
2. *Voronin L., Byzov A., Kleschevnikov A. et al.* // *Behav. Brain Res.* 1995. V. 66. P. 45–52.
3. *Воронин Л.Л., Волгушев М., Соколов М. и др.* // *ДАН.* 1999. Т. 369. С. 126–129.
4. *Воронин Л.Л.* // *Росс. физиол. журн.* 1999. Т. 85. С. 729–742.
5. *Kasyanov A.M., Maximov V.V., Byzov A. et al.* // *Neuroscience.* 2000. V. 101. P. 323–336.
6. *Berretta N., Rossokhin A.V., Kasyanov A.M. et al.* // *Neuropharmacology.* 2000. V. 39. P. 2288–2301.
7. *Voronin L.L.* // *Neuroscience.* 1993. V. 56. P. 275–304.
8. *Henze D.A., Urban N.N., Barrionuevo G.* // *Neuroscience.* 2000. V. 98. P. 407–427.
9. *Mayer M.L., Vyklicky L. Jr.* // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1989. V. 86. № 4. P. 1411–1415.
10. *Calverley R.K.S., Jones D.G.* // *Brain Res. Rev.* 1990. V. 15. P. 215–249.
11. *Buzsaki G., Chrobak J.J.* // *Curr. Opin. Neurobiol.* 1995. V. 5. P. 504–510.