

Внутріклітинні електричні потенціали нейронів симпатичного ганглія

В. І. Скок

Науково-дослідний інститут фізіології Київського державного університету ім. Т. Г. Шевченка

З різних типів нейронів у ссавців, досліджених за останній час методом внутріклітинного відведення електричних потенціалів, нейрони симпатичних гангліїв вивчені найменше. Причина цього полягає в труднощах використання цього методу для дослідження симпатичних гангліїв. На думку дослідників, що безуспішно намагалися відвести внутріклітинні потенціали нейронів гангліїв у ссавців, труднощі ці зумовлені сполучнотканинними капсулами, якими оточені тіла нейронів; спроби розчинити ці капсули за допомогою ферментів або вводити мікроелектрод поштотами не дали позитивних результатів (Песко, 1955).

Відома лише одна робота, де наведені деякі відомості про внутріклітинні потенціали нейронів симпатичного ганглія ссавця — верхнього шийного ганглія кролика (Р. Екклс, 1955). Є також дані, що стосуються внутріклітинних потенціалів верхнього шийного симпатичного ганглія жаби (Светихін, 1957; Нісі і Кокетсу, 1961).

Втім відведення електричних потенціалів від поодиноких нейронів симпатичних гангліїв становить великий інтерес в зв'язку з деякими проблемами фізіології цих гангліїв, які досі ще остаточно не з'ясовані. Це — питання про наявність гальмівних прегангліонарних волокон і про походження тривалого слідового позитивного потенціалу ганглія. Виходячи з цих міркувань, ми вирішили застосувати метод внутріклітинного відведення для вивчення нейронів симпатичного ганглія, використавши для цього зірчастий симпатичний ганглії кішки, що є значно зручнішим об'єктом для цього, ніж верхній шийний ганглії.

Методика досліджень

Досліди провадилися на ізольованому зірчастому ганглії кішки, наркотизованій нембуталом (методика препарування ганглія до ізоляції описана нами раніше — 1957, 1959). Всі корінці ганглія перерізували на відстані близько 7 мм від ганглія, за винятком пограничного симпатичного стовбура і серцевого нерва, які перерізували на відстані 2—3 см від ганглія. Ізольований ганглії занурювали в розчин, рецептура якого була спеціально розроблена для ізольованого симпатичного ганглія (Р. Екклс, 1955). Через розчин пропускали суміш кисню з вуглекислим газом (95% O_2 і 5% CO_2) або чистий кисень; температуру розчину підтримували на рівні 37° С. Камера з ганглієм була побудована так, щоб можна було поряд із внутріклітинним відведенням відводити також потенціали дії від серцевого нерва, що виникали у відповідь на подразнення пограничного стовбура. Наявність потенціалу дії і його амплітуда були показником функціонального стану ганглія, оскільки вони відображали стан синаптичної передачі. Амплітуда потенціалу дії серцевого нерва істотно не змінювалась протягом семи-восьми годин.

Подразнення здійснювали поодинокими прямокутними імпульсами тривалістю в 1 мсек від генератора, з'єднаного з препаратом через радіочастотний генератор. По-

Внутріклітинні потенціали дії серцевого нерва фотографічно на екрані осцилографа. Для внутріклітинного відведення потенціалів з ганглія використовували тримоларний розчин, який забезпечує постійну напругу на міцну оболонку ганглія таким способом о

Процес введення мікроелектроду в ганглії, що в

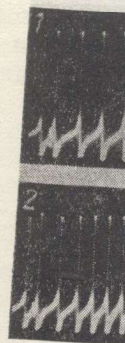


Рис. 1. Потенціали дії нейронів ганглія.

1—4 — той самий ганглії, який проколювали й виводили знімки зроблені з осцилографа. Потенціалу дії 80 мсек, відміряно від стану спокою, яка су

вих шарів ганглія. Зниження потенціалу ганглія. Якщо мікроелектрод досить тонкий, на його шляху не буде перешкод, що можуть перешкодити виведенню мікроелектроду з ганглія при ортотомії. При дослідженні центральної частини ганглія відносно частіше однофазні (позитивні) потенціали, дою не більше 4 мв.

При проколюванні клітин ганглія, в інших — їх немає. Ганглії — близько 40—50 мкм діаметром, в середньому бл. 40 мкм. (в процесі постнатального розвитку частота збільшується). Відповідь на подразнення ганглія пік, що відрізняється від ритмічних розрядів. На рис. 1 (1—4) показані розряди.

Потенціал дії нейронів ганглія збудженні, має на висхідній фази ритмічних розрядів.

тенціали дії серцевого нерва посилювали підсилювачем змінної напруги і реєстрували фотografічно на екрані електронного осцилографа.

Для внутріклітинного відведення використовували скляні мікропіпетки, заповнені тримоларним розчином KCl (опір 10—30 МΩ). Мікроелектрод з'єднували з підсилювачем постійної напруги через каскад з компенсованою вхідною ємністю.

Міцну оболонку ганглія обережно розривали і мікроелектрод вводили в утворений таким способом отвір.

Результати досліджень

Процес введення мікроелектрода всередину ганглія пов'язаний з труднощами, що в основному полягають у проколенні міцних поверхне-

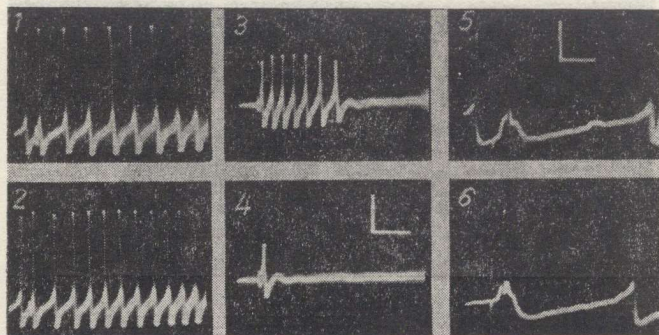


Рис. 1. Потенціал дії нейрона ганглія в присутності ритмічних розрядів.

1—4 — той самий нейрон в процесі поступової деполяризації після проколення його мікроелектродом: 1 — негайно після проколу, решта знімків зроблена один за одним з інтервалами в кілька секунд. Потенціалу дії передують артефакт подразнення. Відмітка часу — 80 мсек, відмітка амплітуди — 25 мв; 5—6 — другий нейрон; потенціал дії при подразненні виникає в різні фази зміни потенціалу спокою, яка супроводжує ритмічні розряди. Відмітка часу — 40 мсек, відмітка амплітуди — 25 мв.

вих шарів ганглія. Значна частина електродів при цьому вигинається і ламається. Якщо мікроелектрод успішно проходить поверхневі шари і він досить тонкий, на дальшому його шляху не зустрічається більше перешкод, що можуть викликати його поломку. В цьому випадку мікроелектрод реєструє позаклітинні і внутріклітинні відповіді поодиноких нейронів при ортодромному збудженні ганглія так само, як і при дослідженні центральних нейронів.

Позаклітинні відповіді являють собою поодинокі або подвійні піки, частіше однофазні (позитивні), рідше двофазні чи трифазні, з амплітудою не більше 4 мв.

При проколенні клітини в одних випадках виникають ритмічні розряди, в інших — їх нема. Величина потенціалу спокою нейронів ганглія — близько 40—50 мв. Піки в ритмічних розрядах виникають з частотою в середньому близько 20 на секунду (коливання від 8 до 30 на секунду), в процесі поступової деполяризації клітини в результаті проколення їх частота збільшується, а потім вони зовсім зникають.

Відповідь на подразнення у клітин з ритмічними розрядами являє собою пік, що відрізняється від піків розрядів дещо більшою амплітудою. На рис. 1 (1—4) наведено типову відповідь на фоні ритмічних розрядів.

Потенціал дії нейронів ганглія, що виникає при ортодромному збудженні, має на висхідній частині кривої коліно, що відрізняє його від ритмічних розрядів.

Це коліно помітне не у всіх клітин. Його добре видно у потенціалі дії (останній відрізняється на рисунку від ритмічних розрядів насамперед наявністю перед ним петлі подразнювального струму) на рис. 1, 5, оскільки цей потенціал дії виникає в період слідової гіперполяризації після одного з ритмічних розрядів. На наступному кадрі (6) цього ж рисунка згадане коліно видно гірше, оскільки потенціал дії не припадає на фазу слідової гіперполяризації від ритмічного розряду. Загалом, при

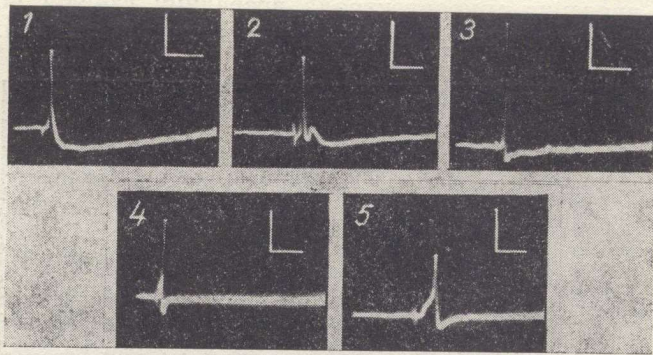


Рис. 2. Потенціал дії нейрона ганглія у відсутності ритмічних розрядів.

Відмітка часу — 20 мсек (2,5), 40 мсек (1,3) і 60 мсек (4). Відмітка амплітуди — 25 мв. 1, 2 і 3 — різні нейрони; 4 і 5 — той самий нейрон. Знімки 1—4 зроблені в умовах стабільного і максимального для даного нейрона потенціалу спокою; знімок 5 зроблено при величині потенціалу спокою, меншій ніж на знімку 4, при більш швидкій розгортці і при пороговому подразненні (в решті випадків на цьому і на інших рисунках подразнення надмаксимальне).

виникненні як потенціалу-відповіді, так і ритмічних розрядів, пік виникає з препотенціалу, що досягає критичної величини, але, як це добре помітно на рис. 1 (5, 6), цей потенціал у піка-відповіді досягає критичної величини набагато швидше, ніж у ритмічних розрядів, і триває довше, навіть залишаючись після піка.

Коліно на висхідній фазі піку-відповіді ясно помітне також на рис. 2 (4, 5), де ліворуч показано відповідь нейрона (без ритмічних розрядів) на надмаксимальне подразнення прегангліонарних волокон, а праворуч — відповідь цієї самої клітини на порогове подразнення прегангліонарних волокон (зменшення амплітуди піка пов'язане з деяким зменшенням потенціалу спокою; кадр 5 зроблено при більш швидкій розгортці, ніж кадр 4).

Відповіді при відсутності ритмічних розрядів є найбільш стійкими і інколи зберігаються на протязі багатьох хвилин. Різні види таких потенціалів дії відображені на рис. 2 і 3. Вони являють собою пік, що супроводжується більш чи менш вираженою слідовою гіперполяризацією. Інколи замість одного виникають два піки. Амплітуди піка становлять 45—65 мв, хоч у деяких випадках трапляються піки з амплітудою 78 мв. Тривалість піка дорівнює 2—4 мсек.

Слідова гіперполяризація, що супроводжує пік, має неоднакову амплітуду і тривалість в різних препаратах. Звичайно вона за тривалістю не перевищує 80 мсек, а за амплітудою — 12% від амплітуди піка. Але іноді можна зареєструвати відповіді, в яких пік супроводжується більш інтенсивною гіперполяризацією з амплітудою в 20—25% від ам-

плітуди піка і тривалістю на рис. 1, а також (1) і на рис. 3 (1) коліно на висхідній фазі його не помітно.

Початок розв'язування лишком від повільного розвитку слідової гіперполяризації (див. рис. 3 (3)), тих реакцій не тільки гангліїв, а й нервового мозку. Нам не вдалося отримати раптового скінчення гіперполяризації із частини, яка розвивається, як це описано (Костюк, 1960).

Отже, електрична дія при ортодромному передаванні, якщо вона виникає в вигляді ритмічних розрядів, відрізняється наявністю повільного підйому до верхівці якого виникає ортодромна збуджувальна відповідь нейронів реєструється (рис. 3 (1—2)) піками становить 10—15 мв, залишається незмінним для певного часу при незмінному потенціалі фону ритмічної активності прегангліонарних нервів. В одному випадку з'явився в процесі постімпального проколення реакції

Обговорення

Відомо, що нейрони інших типів нервової системи, що містяться в гангліях, починають генерувати імпульси з частотою до 100 імпульсів/сек. Частота ганглія кішки і частота ганглія людини понад 20 на імпульс порівняно з ритмічними розрядами, що виникають в нервовій тканині.

плітуди піка і тривалістю до 200 мсек. Відповіді першого типу показані на рис. 1, а також на рис. 2 (2, 3, 4), відповіді другого типу — на рис. 2 (1) і на рис. 3 (3). У відповідях першого типу звичайно добре видно коліно на висхідній частині кривої піка, а у відповідях другого типу його не помітно.

Початок розвитку слідової гіперполяризації часто маскується залишком від повільного препотенціалу, на верхівці якого виникає пік. Це чітко видно на рис. 1 (5, 6). Саме це відрізняє форму слідової гіперполяризації від форми її у ритмічних розрядів. Алгебраїчне підсумування цих двох протилежних за знаком повільних потенціалів і зумовлює появу невеликої заглибини на початку розвитку слідової гіперполяризації (див. рис. 3 (3), типової для електричних реакцій не тільки нейронів симпатичних гангліїв, а й мотонейронів спинного мозку. Нам не доводилось спостерігати раптового скорочення слідової гіперполяризації із зникненням тієї її частини, яка розвивається після заглибини, як це описано для мотонейронів (Костюк, 1960).

Отже, електрична відповідь нейрона при ортодромному його збудженні, якщо вона виникає на фоні ритмічних розрядів, відрізняється від них лише наявністю повільного потенціалу, на верхівці якого виникає пік.

Нарешті, в деяких випадках при ортодромному збудженні ганглія відповіді нейронів реєструються у формі двох піків (рис. 3 (1—2)). Інтервал між піками становить 10—15 мсек і залишається незмінним для даного нейрона при незмінному потенціалі спокою. Такі відповіді спостерігаються як на фоні ритмічної активності, так і без неї. При ослабленні подразнення прегангліонарних нервових волокон другий пік зникає, а перший залишається. В одному випадку нам довелося спостерігати, як другий пік з'явився в процесі поступової деполяризації клітини, що в перші хвилини після проколання реагувала виникненням одного піка.

Обговорення результатів досліджень

Відомо, що нейрони симпатичних гангліїв відрізняються від багатьох інших типів нейронів своєю низькою лабільністю. Так, потенціали дії нерва кішки, що містить постгангліонарні волокна верхнього шийного ганглія, починають слабшати вже при пропусканні через ганглії імпульсів з частотою понад 25 на секунду (Шевельова, 1949), для зірчастого ганглія кішки песимальний ефект спостерігається при частоті імпульсації понад 20 на секунду (Кеннон, Рауль і Шефер, 1954). З цим узгоджується порівняно низька частота (близько 20 на секунду) ритмічних розрядів, що виникають при проколанні клітини мікроелектродом.

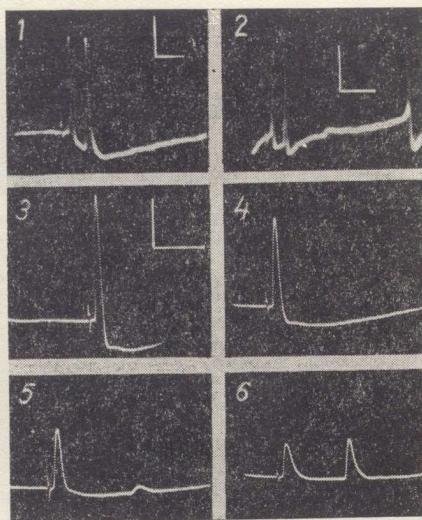


Рис. 3. Подвійні потенціали дії в нейронах ганглія.

1, 2 — різні нейрони, 3 — з ритмічною активністю, 1 — без неї; 3—6 — той самий нейрон в процесі поступової деполяризації після проколання. 3 — потенціал дії при максимальному потенціалі спокою, знімки 4—6 зроблені один за одним з інтервалами в кілька хвилин. Відмітка часу — 20 мсек, (1 і 3—6) і 40 мсек (2), відмітка амплітуди — 25 мв.

В нейронах інших типів, більш лабільних, і частота ритмічних розрядів при деполяризації від проколення значно вища (наприклад, у нейронах *tectum opticum* жаби, за нашими, ще неопублікованими, даними). Отже, максимальний ритм розрядів, що виникають при деполяризації нейрона, тісно пов'язаний з його лабільністю.

Форма електричної відповіді нейрона ганглія при його ортодромному збудженні виявляється дуже схожою з формою відповіді цілого ганглія або його корінців. На рис. 4 зображена електрична реакція, від-

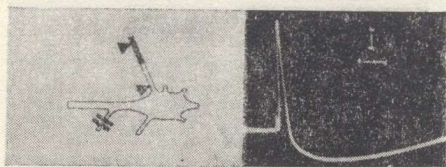


Рис. 4. Електрична реакція корінця серцевого нерва зірчастого ганглія кішки на поодинокі ортодромні імпульси. Негативність під найближчим до ганглія відвідним електродом відповідає відхиленню променя вгору. Нерв під дистальним відвідним електродом вбито.

Відмітка часу — 40 мсек, відмітка амплітуди — 0,3 мВ.

ведена від корінця серцевого нерва поблизу ганглія. При цьому поряд з піком реєструється також тривалий позитивний потенціал, і вся реакція дуже нагадує відповідь поодинокого нейрона, показану на рис. 2 (1), тільки при відведенні від нерва реакція, природно триваліша. Це порівняння підтверджує висновок, до якого приходили деякі дослідники, що електрична реакція, відведена з поверхні симпатичного ганглія чи від його корінців поблизу ганглія, є електричною реакцією нервових клітин ганглія.

Електрична відповідь поодинокого нейрона симпатичного ганглія

нагадує відповідь нейронів інших типів, насамперед мотонейронів. Потенціал, що передую піку, очевидно, є постсинаптичним потенціалом, описаним для нейронів верхнього шийного ганглія (Р. Екклс, 1955). Цікаво, що в тих відповідях, де слідова гіперполяризація була дуже інтенсивною і тривалою, цей потенціал зовсім не помітний.

Певний інтерес становлять відповіді двома піками, природа яких ще не відома. Цікаво, що інтервалу між обома піками відповідає максимум полегшення, яке супроводить проведення через ганглії поодиноким ортодромним імпульсом (Скок, 1959). Отже, і при відведенні від цілого ганглія або його корінців можна спостерігати підвищення збудливості клітин ганглія через 10—15 мсек після виникнення в них піка, але другий пік при цьому звичайно не виникає.

При порівнянні електричної відповіді нейрона ганглія з ритмічними розрядами видно, що за тривалістю слідової гіперполяризації відповідь подібна до ритмічних розрядів. Тому в цьому випадку не спостерігається тривалого гальмування ритмічних розрядів після електричної відповіді, яка є характерною для нейронів деяких інших типів, зокрема для нейронів *tectum opticum* жаби при поодинокому подразненні зорового нерва. Відповідно до цього гіперполяризація, що супроводжує пік в електричній відповіді нейронів *tectum opticum* при внутріклітинному відведенні, набагато триваліша за слідову гіперполяризацію ритмічних розрядів.

За своїми електричними відповідями на поодинокі ортодромні стимули до нейронів зірчастого ганглія з нейронів інших типів найбільш близькі мотонейрони спинного мозку. Відповідь поодиноким піком на поодинокі ортодромні імпульси, відносно низька лабільність і інтенсивна слідова гіперполяризація відрізняють ці два типи нейронів від проміжних нейронів спинного мозку і багатьох нейронів головного мозку. Схожість між нейронами симпатичних гангліїв і мотонейронами щодо їх електричних реакцій і циклу змін збудливості при збудженні

була відзначена в зана із схожістю гангліїв, і мотоней безпосередньо пов' доказів того, що в винна гіперполяризаційної активації, як ц 1952; Екклс, 1957).

1. Електрична кішки на поодинок електричною відпов 45—65 мВ і тривалі ляризацією, що за 60—70 мсек. Появі но, є постсинаптич висхідній частині пі мується повільним після піка.

2. В багатьох н сивною (до 25% ам гіперполяризацією. І мітно потенціалу.

3. Нейрони ганг імпульс двома пікам вал майже точно ві проведення через га

Воронцов Д. С. ных при Киевском госуни Костюк П. Г., Фі Скок В. І., Науко с. 203; Физиол. журн. СС ческого ганглия кошки. Д Шевелева В. С., Brock L. G., Co p. 431.

Cannon P., Rau Eccles J. C., Fa Eccles R., J. Physi Nishi S. and Ko Pascoe J. E., J. P Svaetichin G., I

була відзначена вже давно (Воронцов, 1947). Вона, безперечно, пов'язана із схожістю в анатомічних відношеннях. І нейрони симпатичних гангліїв, і мотонейрони, на відміну від нейронів згаданих вище типів, безпосередньо пов'язані з еферентними утвореннями. Проте нема прямих доказів того, що в нейронах симпатичних гангліїв може виникати первинна гіперполяризація, викликана шляхом ортодромної чи антидромної активації, як це показано для мотонейронів (Брок, Кумбс і Екклс, 1952; Екклс, 1957).

Висновки

1. Електрична відповідь нейрона зірчастого симпатичного ганглія кішки на поодинокий ортодромний імпульс дуже схожа за формою з електричною відповіддю цілого ганглія і являє собою пік амплітудою 45—65 мВ і тривалістю в 2—4 мсек, супроводжуваний слідовою гіперполяризацією, що за величиною досягає 12% амплітуди піка і триває 60—70 мсек. Появі піка передуює виникнення препотенціалу, що, очевидно, є постсинаптичним потенціалом і утворює чітко помітне коліно на висхідній частині піка. Початок розвитку слідової гіперполяризації стримується повільним негативним потенціалом, що триває деякий час після піка.

2. В багатьох нейронах ганглія пік супроводжується більш інтенсивною (до 25% амплітуди піка) і тривалою (до 200 мсек) слідовою гіперполяризацією. На висхідній частині піка в таких відповідях не помітно потенціалу.

3. Нейрони ганглія можуть відповідати на поодинокий ортодромний імпульс двома піками з інтервалом між ними в 10—15 мсек. Цей інтервал майже точно відповідає максимуму полегшення, яке супроводжує проведення через ганглії ортодромного імпульсу.

ЛІТЕРАТУРА

- Воронцов Д. С., Научные записки Научно-исслед. ин-та физиологии животных при Киевском госуниверситете, 2, вып. 2, 1947, 9—68.
Костюк П. Г., Физиол. журн. СССР, 36, 1960, с. 9.
Скок В. І., Наукові записки Київського держуніверситету, 16, в. 17, 1957, с. 203; Физиол. журн. СССР, 35, 1959, с. 610; Электр. реакции звездчатого симпатического ганглия кошки. Дисс., К., 1959, с. 99.
Шевелева В. С., Труды ВМА, 17, 1949, с. 443.
Brock L. G., Coombs J. C. and Eccles J. C., J. Physiol., 117, 1952, p. 431.
Cannon P., Raule W. und Schaefer H., Pflüg. Archiv, 260, 1954, S. 136.
Eccles J. C., Fatt P. and Koketsu K., J. Physiol., 126, 1954, p. 524.
Eccles R., J. Physiol., 130, 1955, p. 572.
Nishi S. and Koketsu K., J. Cell. and Comp. Physiol., 55, 1960, p. 15.
Pascoe J. E., J. Physiol., 128, 1955, p. 26.
Svaetichin G., Experimental Cell. Research, Suppl. 5, 1958, p. 234.

Надійшла до редакції
15.X 1961 р.

Внутриклеточные электрические потенциалы нейронов симпатического ганглия

В. И. Скок

Научно-исследовательский институт физиологии Киевского государственного университета им. Т. Г. Шевченко

Резюме

Исследованы внутриклеточные электрические ответы на одиночное ортодромное раздражение нейронов изолированного звездчатого симпатического ганглия кошки. Ответ нейрона весьма похож по форме на электрический ответ целого ганглия и представляет собой пик амплитудой 45—65 мВ и продолжительностью в 2—4 мсек, сопровождаемой следовой гиперполяризацией, достигающей по величине 12% амплитуды пика и длящейся 60—70 мсек. Появлению пика предшествует возникновение потенциала, который, видимо, является постсинаптическим потенциалом и образует ясно заметное колено на восходящей части пика. Начало развития следовой гиперполяризации замедляется медленным отрицательным потенциалом, длящимся некоторое время после пика. Во многих нейронах ганглия пик сопровождается более интенсивной (до 25% амплитуды пика) и продолжительной (до 200 мсек) следовой гиперполяризацией. На восходящей части пика в таких ответах не заметно препотенциала. Нейроны ганглия могут отвечать на одиночный ортодромный импульс двумя пиками с интервалом между ними в 10—15 мсек. Этот интервал почти точно отвечает максимуму облегчения, которое сопровождает проведение через ганглий ортодромного импульса.

Intracellular Electric Potentials of Sympathetic Ganglion Neurons

V. I. Skok

Research Institute of Physiology of the T. G. Svehchenko State University of Kiev

Summary

The author investigated the intracellular electric responses to a single orthodromic stimulation of the neurons of the isolated stellate sympathetic ganglion of the cat. The neuron response is very similar in form to the electric response of the whole ganglion and is a peak with an amplitude of 45—65 mv lasting 2—4 msec, accompanied by after-hyperpolarization attaining a magnitude of 12 per cent of the amplitude of the peak and lasting 60—70 msec. The appearance of the peak is preceded by the appearance of a potential, which is, apparently, a postsynaptic potential and forms a distinct bend in the ascending part of the peak. The beginning of the development of the after-hyperpolarization is retarded by the slow negative potential, lasting for some time after the peak. In many neurons of the ganglion the peak is accompanied by a more intensive (up to 25 per cent of the peak amplitude) and prolonged (up to 200 msec) after-hyperpolarization. On the ascending part of the peak no prepotential is noted in such responses. The neurons of the ganglion may respond to a single orthodromic impulse by two peaks with an interval of 10—15 msec between them. This interval almost precisely corresponds to the maximum of facilitation, which attends the passage through the ganglion of an orthodromic impulse.

Особливості на окремі нейр

Лабор
ім. С

Дослідженнями ретикулярної форми нервової системи. Д аферентних імпульс ни (Баумгартен, М мірі змінена і дета. ліка, Морущі (1954 жена та її характе Ці автори, а також ретикулярні нейрони екстероцептивні та і лови тварини. Пале Молліка (1957) вияв ні аферентні імпульс йовому мості і 65% змінювалась при над Дослідження цих клітинних відведень, формації стовбура м допомогою одних тіл змоги встановити, як тинах, які не реагують дії, лежать в осно лена в нашій лабора ціалів з окремих рети ці питання.

Досліди провадилися но) і позбавлених можливі дихання підтримували карді бурі головного мозку і м (1961). Позаклітинні та внутрішні мікроелектродів, заповнені електродами накладали на пл та передню частку черв'яка невеликої лампи. Наявністі