

УДК 612.014.42

О. В. Говоруха, Г. А. Таран

ТИПИ ІМПУЛЬСНОЇ АКТИВНОСТІ НЕЙРОНІВ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ *PLANORBIS CORNEUS*

Наявність постійної імпульсної активності в нервах була зафіксована вже першими дослідниками нервової системи молюсків [4, 7]. Наступні експерименти, проведені на окремих нервових клітинах, також показали, що більшість нейронів мозку молюска мають постійну імпульсну активність [2, 13, 15].

За своїм зовнішнім виглядом імпульсна активність (ІА) нервових клітин дуже різноманітна, як різноманітні і причини, що її викликають. Це ритмічна ІА, коли потенціали дії (ПД) генеруються з однаковими інтервалами, або аритмічна, коли ПД генеруються за рахунок збуджувальних постсинаптичних потенціалів (ЗПСП), або фазна імпульсна активність, коли імпульси групуються в пачки.

Така різноманітність ІА привела до того, що частина авторів вважають цю різноманітність результатом впливу самих дослідників під час дослідів [1, 7]. Інші автори доводять, що така ІА є невід'ємним якісним показником кожного індивідуального нейрона [11, 13].

Вивчаючи нейронну організацію мозку річкового молюска *Planorbis Corneus* ми повинні були вирішити, наскільки наше втручання змінить природне функціонування нервової клітини. Для цього необхідно провести досліді для виявлення типу ІА у нейронів катушки та визначення рівня впливу, що вноситься під час експерименту, на таку імпульсну активність.

Методика досліджень

Досліді проведені в різні пори року при температурі в експериментальній камері 18—22° С. Для дослідів використовували три типи препаратів: інтактний, коли робили тільки поздовжній розріз на спині тварини, для доступу до нейронів; ізольоване навколوجلоткове нервеве кільце, коли після розрізу перерізували нерви і ганглії витягували з тіла тварини; ізольований ганглій, коли від цілого нервового кільця ізолювали окремий ганглій. Одержаний препарат фіксували у ванночці з фізіологічним розчином.

Імпульсну активність нервових клітин реєстрували мікроелектродом, який заповнювали розчином цитрату калію (2 М) або хлористого калію (2,5 М). Підсилення сигналу здійснювали з допомогою підсилювача біопотенціалів УБП-1-02. З допомогою мосту постійного струму ми мали змогу стимулювати нейрон і реєструвати його ІА через один і той же електрод. Для реєстрації електричної активності в нервах, а також для подразнення їх, нерви затягували в скляні піпетки з хлорсрібними електродами. Реєстрацію здійснювали на осцилографі С-16 і чорнило-реєструючому самописці РПЧ-4.

Результати досліджень та їх обговорення

Дослідження електричної імпульсної активності нейронів катушки показали дуже різноманітний характер ІА, як за розподілом потенціалів дії в часі, так і за генезом самої ІА.

За генезом ІА поділили на два види — фонову активність (ФА), тобто активність, яка викликається за рахунок постсинаптичних потенціалів

лів і спонтанну активність (СА) — активність, яка викликається за рахунок роботи ендогенних механізмів.

Реєстрація ІА від понад 1300 нейронів нервової системи котушки показала, що можна виділити три основні типи нейронів: з тонічним типом генерації ПД; з фазним типом генерації ПД; «мовчазні» нейрони, тобто клітини, які не генерували спонтанні ПД.

Тонічна імпульсна активність найчастіше трапляється у нервових клітин мозку молюска. За своєю природою цей тип ІА можна поділити на два підтипи — фонову і спонтанну активність. Спонтанну активність

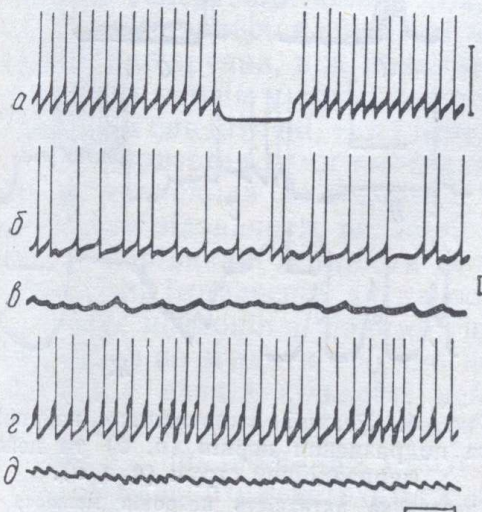


Рис. 1. Приклади тонічної імпульсної активності нейронів молюска *Planorbis Corneus*.

Калібрівка: а, б, г — 50 мВ, 1 с; в, д — 10 мВ, 1 с (пояснення в тексті).

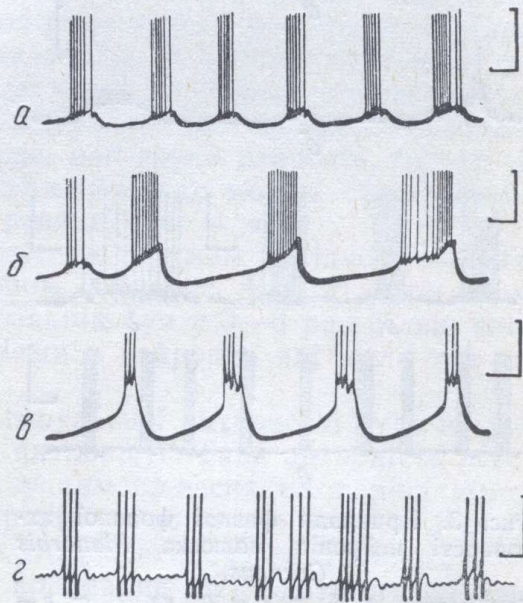


Рис. 2. Приклади фазної ендогенної активності нейронів молюска *Planorbis Corneus*.

Калібрівка: а — г — 50 мВ, 2 с (пояснення в тексті).

характеризує висока стабільність генерації ПД, чіткий потенціал (рис. 1, а). Нейрони з таким типом ІА генерують безперервний ряд піків з частотою від 0,1 — 0,3 імн/с до 10 імн/с. Гіперполяризація нейрона приводить до припинення генерації ПД. Збуджувальні постсинаптичні потенціали при цьому не виявляються (рис. 1, а). При взаємодії тонічної СА з гальмівними постсинаптичними потенціалами (ГПСП), які надходять до нейрона, активність набуває аритмічного характеру. У цьому випадку розподіл ПД у часі повністю залежить від частоти ГПСП (рис. 1, б, в).

Аритмічність у генерації ПД утворюється і при надходженні до нейрона нерегулярних ЗПСП. Але, якщо такий потік ЗПСП більш-менш регулярний, то нейрон може генерувати регулярну ФА (рис. 1, г). Гіперполяризація дозволяє виявити регулярні ЗПСП, як причину такої тонічної ФА. Частота генерації ПД у нейроні з ФА нижча за частоту в нейроні з спонтанною активністю — 3—5 імн/с. Це добре ілюструється наведеним прикладом, де ПД генерується не на кожний ЗПСП, а при сумарній двох-трьох таких ПСП (рис. 1, г, д).

Фазний тип генерації ПД — мабуть, найбільш цікавий тип імпульсної активності. Як і тонічна, фазна активність може створюватись за рахунок ендогенних причин або за рахунок фонових ПСП. У першому випадку, ми реєструємо спонтанну хвилеподібну зміну мембранного по-

тенціалу. На вершині таких хвиль, при досягненні певного рівня деполяризації генерується пачка ПД. В такій пачці від 2 до 20 імпульсів. Повільні коливання потенціалу виникають періодично через кілька секунд (від 2 до 20). Форма повільної хвилі може бути різною — від пологих синусоїдальних хвиль до хвиль з повільнонаростаючим переднім фрон-

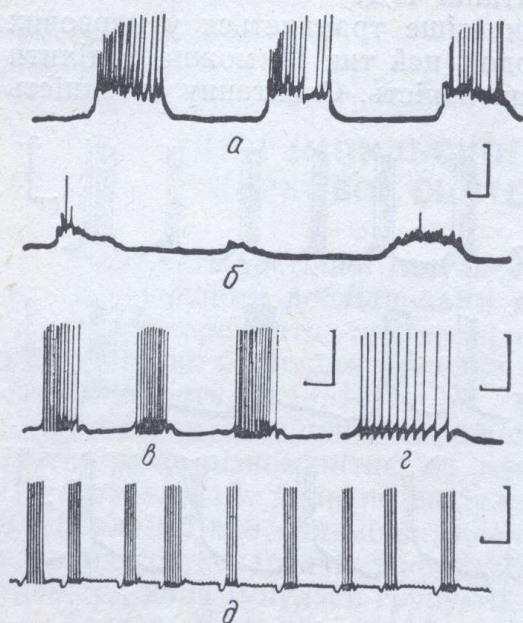


Рис. 3. Приклади фазної фонові активності нейронів молюска *Planorbis Corneus*.

Калібровка: а, б, г, д — 50 мв, 1 с; в — 50 мв, 3 с.

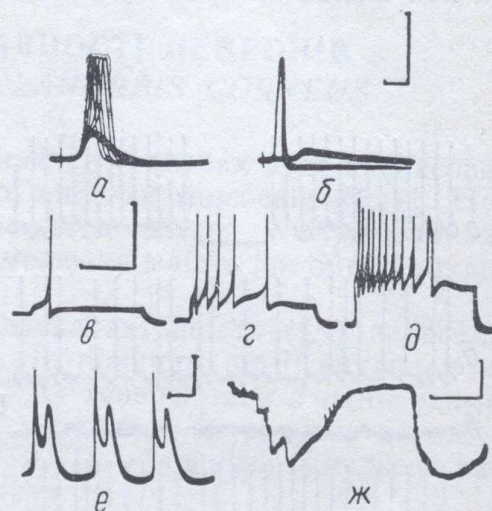


Рис. 4. Реакції «мовчазних» нейронів на подразнення нервів (а, б) та деполяризаційний струм (в, г, д).

Електрична активність нейронів молюска у зимово-весняний період (е, ж). Калібровка а, б — 50 мв, 20 мс; в—д — 50 мв, 1 с; е — 10 мв, 0,2 мс; ж — 10 мв, 1 с.

том і крутим заднім (рис. 2 а, б). Розподіл ПД на вершинах таких хвиль зворотний: більша частина генерації ПД на початку пачки — в першому випадку; збільшення частоти ПД наприкінці пачки — в другому.

Фазна СА з високоамплітудними хвилями (до 30 мв) була зареєстрована у нейронів буккального ганглію. В цьому випадку кількість ПД на вершинах хвиль менша, ніж у описаних типів фазної СА (рис. 2, в). До ендогенного типу активності можна віднести і генерацію ПД при участі пейсмейкерного механізму (рис. 2, г).

При гіперполяризації нейронів з фазною СА як повільні хвилі, так і генерація ПД на них зникали.

Фазний тип ІА зумовлюється також і групуванням фонових ЗПСР. Виникнення такої синхронної групи ЗПСР викликає різку хвилеподібну деполяризацію мембрани нейрона. На вершині такої деполяризації генерується пачка ПД. Кількість імпульсів у пачці, їх частота, розподіл — все це залежить від характеру збудження (рис. 3, а). Гіперполяризація нервової клітини в цьому випадку дозволяє чітко виявити виникнення груп ЗПСР (рис. 3, б).

У деяких випадках безперервне виникнення на нейроні ЗПСР приводить до стійкої деполяризації його мембрани на рівні, близькому до рівня генерації ПД. Тепер невеликі зміни рівня МП можуть приводити до генерації ПД. Імпульсна активність такого типу відзначається незначною деполяризацією перед пачкою ПД (2—4 мв) і також малою гіперполяризацією після пачки (рис. 3, в). Більш швидка розгортка

дозволяє побачити, що генерація імпульсів у пачці викликана не під впливом ЗПСП (рис. 3, *г*).

Цікавий підтип фазної ФА, виявлений у нейронів буккального ганглію, одержується при взаємодії двох типів ГПСП: низькоамплітудних і ритмічних (до 10 мв з частотою 3—6 кол/с) та більш рідких і високоамплітудних (10—30 мв). Взаємодія цих двох типів ГПСП на нейроні приводила до фазної активності: група ПД виникала, як ефект віддачі, після виникнення високоамплітудного ГПСП на фоні гальмування, створеного ритмічними низькоамплітудними ГПСП (рис. 3, *д*).

Зовсім окремою групою стоять «мовчазні» нейрони. Це такі нервові клітини, у яких при проникненні мікроелектрода реєструється тільки стрибок МП, без характерного спалаху ПД. У деяких випадках такі нейрони генерували кілька ПД, і після цього спонтанна генерація піків не відновлювалась на протязі всього відведення. «Мовчазні» нейрони — це скоріше зручна, ніж правильна назва цієї групи нейронів, бо при подразненні нервів у таких нейронів майже завжди можна було зареєструвати як синаптичні, так і імпульсні реакції (рис. 4, *а, б*).

Поляризація соми «мовчазної» клітини струмом вихідного напрямку також приводила до генерації нейроном ПД (рис. 4, *в, г*). При цьому необхідно відзначити, що поріг цих реакцій був у 3—6 раз більш високим, в порівнянні з такими ж реакціями у нейронів, які мали той або інший тип імпульсної активності.

Опис нейронів з різними типами імпульсної активності буде не повний, якщо не згадати про «нетипову» активність. Така активність реєструється у деякій кількості нейронів у зимово-весняний період життя молюска. Мембранний потенціал нейронів у цю пору року становить 20—30 мв, що, можливо, і обумовлює таку «нетипову» активність.

Здебільшого реєструється тільки коливання МП, здатність до генерації ПД дуже пригнічена, якщо і генеруються піки, то вони низькоамплітудні (менш 30 мв) і великої тривалості (понад 20 мс). Змінена і форма самого ПД — на задньому фронті імпульсу «з'являється «плече», зменшується або зовсім зникає слідова гіперполяризація (рис. 4, *ж, е*).

Поділ нейронів на групи з різними типами імпульсної активності, як вважають деякі автори, не відповідає дійсному положенню речей: той чи інший характер ІА реєструється нами залежно від умов досліджу.

Так, Віллоус твердить, що більшість нейронів інтактного препарату Тритонії «мовчить», а в ізолюваній нервовій системі більшість нейронів має спонтанну активність [15]. Введення мікроелектрода в нервову клітину, як вважає Вислобоков, також приводить до порушення в характері ІА і до зміни в механізмі генерації ПД [1].

Косарева з співавторами показали, що частота і характер розподілу імпульсної активності в нервах інтальної тварини (п'явки) не змінюються при ізоляції нервової системи [6].

Реєструючи ІА ідентифікованого нейрона А церебрального ганглію [3] в інтактному молюску, у препараті цілого гангліозного кільця і в ізолюваному окремому церебральному ганглії ми також не виявили істотних відмінностей в ІА нейрона в усіх трьох випадках (рис. 5).

Проконтролювати характер ІА в нейроні до і після введення мікроелектрода можливо, якщо реєструвати паралельно ІА в нейроні та електричну активність у нерві (при умові перебування аксона нейрона в цьому нерві). Як показують наші дослідження, характер ІА нейрона до і після введення мікроелектрода не змінюється (рис. 5, *д, ж*).

Довгий час вважали, що, взагалі, ІА як у вищих, так і у нижчих тварин створюється тільки за рахунок синаптичного впливу [7]. А то-

му не може бути й мови про якусь типовість, або подібність ІА. Але Арванітакі і Халазанітіс на нейронах Аплізії довели, що є ІА, яка утворюється за рахунок дії клітинних механізмів, тобто має ендогенне походження. Вони ж поділили таку активність на два типи — тонічну і фазну [11]. Елвінг, ізолювавши сому нейрона від синаптичних впливів, також показала, що є два типи нервових клітин — з тонічною і з фазною

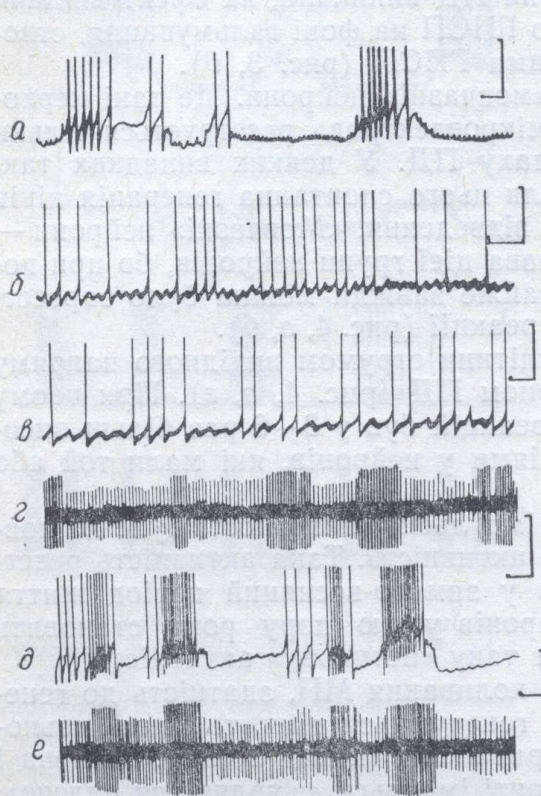


Рис. 5. Імпульсна активність ідентифікованого нейрона А в інтактному препараті (а), в ізолюваному нервовому кільці (б), в окремому ізолюваному ганглії (в).

Електрична активність у нерві до введення мікроелектрода в нейрон (г), кореляція імпульсної активності нейрона з електричною активністю в нерві (д, е). Калібрівка: а, б — 40 мВ, 1 с; в — 50 мВ, 0,5 с; г, е — 250 мкВ, 2 с; д — 50 мВ, 2 с.

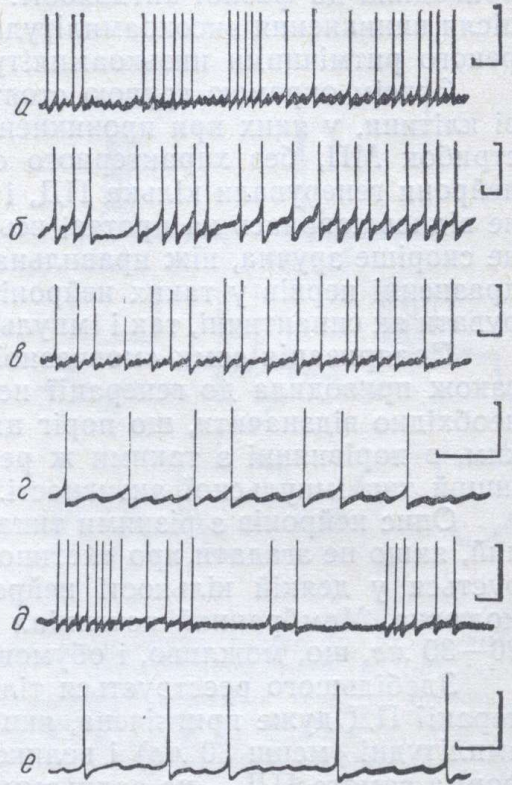


Рис. 6. Імпульсна активність ідентифікованого нейрона А, зареєстрована у різних препаратів

а — листопад 1967 р., б — жовтень 1968 р., в — грудень 1968 р., г — травень 1969 р., д — грудень 1971 р., е — квітень 1972 р. Калібрівка: а — е — 50 мВ, 1 с.

спонтанною активністю [10]. Повністю ізолювані нейрони виноградно-го слимака мали здатність генерувати ПД протягом кількох годин і навіть діб [5].

У нервовій системі котушки нейрони також мали СА. Це добре підтверджується при гіперполяризації таких нейронів, коли генерація ПД припинялася, але ЗПСП не виявляються (рис. 1, а).

Важливим доказом того, що певний тип ІА належить кожному індивідуальному нейрону, є незмінність характеру такої активності у нейронів, ідентифікованих від препарату до препарату. Так, у нейрона А реєструється тонічна аритмічна активність. Характерною особливістю її є генерація спонтанних ПД, які перемежуються з ГПСП, що безперервно надходять (рис. 6.). Реєструючи ІА у цьому нейроні на протязі кількох років у різних молюсків, ми показали, що ця активність істотно не змінюється (рис. 6.).

Існування нейронів з різними типами ІА передбачає їх участь у здійсненні різних рефлекторних реакцій. Наприклад, нейрони з фазним типом активності повинні брати участь у нервовій регуляції органів з періодичною дією. Це підтверджується дослідями ряду авторів [12, 14, 15]. Зокрема, Гайнер показав, що аксонні відростки нейрона з фазною активністю у правому парієтальному ганглії виноградного слимака, доходять до передсердя [12].

У *Planorbis Corneus* також є нейрон у правому парієтальному ганглії з фазним типом ІА (рис. 2, а). Цей нейрон гомологічний описаному у виноградного слимака [9], що дає підставу думати про його участь у регуляції діяльності серця.

Підсумовуючи результати наших досліджень, можна зробити висновки, що імпульсна активність нейронів черевоногих моллюсків є важливим і певним критерієм для ідентифікації багатьох нейронів і дозволяє одержати попередні дані про діяльність нервової клітини у здійсненні певних рефлекторних реакцій.

Література

1. Вислобоков А. И. Формы внутриклеточных потенциалов действия сомы идентифицируемых гигантских нейронов моллюсков.— Физиол. журн. СССР, 1974, 60, 1, 42—47.
2. Герасимов В. Д., Костюк П. Г., Майский В. А. Особенности генерации потенциалов действия в гигантских нейронах моллюсков.— Физиол. журн. СССР, 1964, 50, 11, 13—21.
3. Говоруха А. В., Трошихин В. А., Дембновецкий О. Ф., Тарн Г. А. Синаптическая организация идентифицированных нейронов церебральных ганглиев моллюска *Planorbis Corneus*.— Журн., эволюц. биохим. и физиол., 1974, 10, 1, 29—35.
4. Гогава М. В. О природе центральной регуляции у *Helix pomatia*. Сообщ. I.— В кн.: Труды Тбил. ун-та, 1954, 54, 183—202.
5. Дорошенко П. А., Костюк П. Г., Крышталь О. А. Действие кальция на мембрану сомы гигантских нейронов моллюсков.— Нейрофизиология, 1973, 5, 621.
6. Косарева Л. О., Лебедев А. Н., Дуринян Р. А. Эффект изоляции нервных ганглиев у беспозвоночных (*Hirudemedicinalis*).— В сб.: Статистическая электрофизиология, Вильнюс, 1968, 1, 221—233.
7. Коштоянц Х. С. Основы сравнительной физиологии, 1957, 2.
8. Пархоменко Н. И. Исследования гетерогенности ионных процессов поверхностной мембраны нейронов моллюсков. Автореф. канд. дис., Киев, 1971.
9. Сахаров Д. А. Генеалогия нейронов, М., 1974.
10. Alving B. O. Spontaneous activity in isolated somata of *Aplisia* pacemaker neurons.— J. gen. Physiol., 1968, 51, 29—45.
11. Owanitaki A., Chalozonitis N. Electrical properties and temporal organization in oscillatory neurons.— In: Neurobiology of Invertebrates, Budapest. Acad. Kiado, 1968, 169—199.
12. Gainer H. Patterns of protein synthesis in individual, identified molluscan neurons.— Brain Res., 1972, 39, 369—385.
13. Frazier W. T., Kandel E. R., Kupfermann I., Waziri R., Coggeshall R. E. Morphological and functional properties of identified neurons in the abdominal ganglion of *Aplisia Californica*.— J. of Neurophysiology, 1967, 30, 6.
14. Weevers R. G. A preparation of *Aplisia* Sarsia for intrasomatic recording and stimulation of single neurones during locomotor movements.— J. Exp. Biol., 1971, 54, 3, 659—676.
15. Willows Q. O. D., Hoyle G. Correlation of behavior with the activity of single identifiable neurons in the brain of *Tritonia*.— J. Neurobiology of Invertebrates, Budapest, Acad. Kiado, 1968, 443—461.

Відділ вищої нервової діяльності
Інституту фізіології
ім. О. О. Богомольця АН УРСР, Київ

Надійшла до редакції
2.III 1976 р.

O. V. Govorukha, G. A. Taran

TYPE OF IMPULSE ACTIVITY IN NEURONS
OF *PLANORBIS CORNEUS* NERVOUS SYSTEM

Summary

The neurons with different type of the impulse activity were found in the peripharyngeal nerve ring of *Planorbis corneus*. By the type of the impulse activity (IA) the brain neurons of an animal are divided into three groups: neurons with the tonic type of IA, neurons with the phase type of IA and «silent» neurons. For each neuron the IA is individual and highly constant by its character. In the neurons identified from preparation to preparation the same type of the IA is found both in the intact animal and in the isolated ganglionic ring and individual isolated ganglion. In these nerve cells the same character of the impulse activity during some years is shown. Besides, in a series of neurons no seasonal changes in the IA were found. The data presented permit considering the impulse activity to be a reliable criterion for identification of many nerve cells.

Department of Higher Nervous Activity,
the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev