

УДК 591.88:591.481.1

Н. С. Косицын, В. М. Сердюченко, С. В. Гетманцев

РЕАКЦИЯ АПИКАЛЬНЫХ ДЕНДРИТОВ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЫ НА ДЛИТЕЛЬНУЮ РИТМИЧЕСКУЮ ЭЛЕКТРОСТИМУЛЯЦИЮ РЕЛЕЙНОГО ТАЛАМИЧЕСКОГО ЯДРА

Дендриты нервных клеток центральной нервной системы обеспечивают основную долю межнейрональных взаимодействий за счет аксо-дендритических связей. У больших пирамидных нейронов коры головного мозга 90 % всей рецептивной поверхности приходится на дендриты, большая часть которых являются апикальными дендритами и их ветвлениями [2, 9]. Среди многочисленных синапсов на апикальных дендритах пирамидных клеток V слоя корковых проекционных областей имеются окончания волокон специфических релейных ядер таламуса [1, 5, 8]. Составляя существенную часть массы коры больших полушарий, дендриты, несомненно, играют важную роль в сложных функциях мозга. Однако многочисленные факты, касающиеся конкретных функций дендритов, противоречивы и не всегда убедительны. Так, окончательно не доказана роль дендритов в проведении нервного импульса; спорным остается вопрос о связи дендритов с генезом электрической активности коры больших полушарий; практически не изучен конкретный вклад дендритов в процессы высшей нервной деятельности. Естественно, что для решения этих сложных вопросов неврологии требуется действенный комплекс современных электрофизиологических, ультраструктурных и цитохимических методов.

В своей работе мы попытались найти методический прием, который позволил бы ответить хотя бы на некоторые из спорных вопросов. Этот методический прием включает нанесение локального дозированного вредящего воздействия на кору больших полушарий, адресованного именно к апикальным дендритам пирамидных нейронов. Наш методический подход является разновидностью широко применяемого в физиологии метода повреждения отдельных участков целой коры, где повреждением является «ультраэкстирпация» отдельного локуса пирамидного нейрона. Этим локусом в данном случае являются апикальные дендриты пирамидного нейрона сенсомоторной области коры больших полушарий.

Методика исследований

Исследования проведены на семи взрослых кошках. Предварительно в операциях под нембуталовым наркозом (40 мг/кг) животным стереотаксически вводили раздражающие электроды в специфическое заднее вентро-латеральное таламическое ядро (VPL) в соответствии с атласом Джаспера и Аймон-Марсана [6] по следующим координатам: во фронтальном плане 9,0; в латеральном — 6,0—7,0; при глубине +1 в область представительства передней конечности. В качестве раздражающих использовали электроды из нихромовой проволоки, изолированные лаком по всей длине, кроме кончиков. Расстояние между электродами составляло 1 мм. Регистрирующие электроды в виде серебряных шариков диаметром 0,5 мм располагались экстрадурально в сенсомоторной коре над областью сенсорного представительства той же конечности (рис. 1). Эту область тестировали по фокусу максимальной активности первичного ответа при раздражении электрическим током кожи предплечья передней конечности. Индифферентный электрод укрепляли в носовой кости посредине между лобными пазухами. Электроды жестко фиксировали на черепе цемент-фосфатом и пластмассой, концы электродов обрезали до нужных размеров и припаивали к штырькам разъема, который также прочно крепили на черепе. Все это позволяло использовать животное в длительном хроническом эксперименте.

Под нембуталовым наркозом животное через раздражающие электроды (в VPL) подвергали длительной (в течение 2 ч) ритмической электростимуляции. Параметры сти-



Рис. 2. Поперечный срез пирамидного нейрона сенсомоторной коры.

а — на



Рис. 2. Поперечно срезанные апикальные дендриты пирамидных нейронов сомоторной коры после 2 ч высокочастотной электро- стимуляции ядра ВПЛ
а — на стороне стимуляции. Ув. 17 000. Д — дендрит.

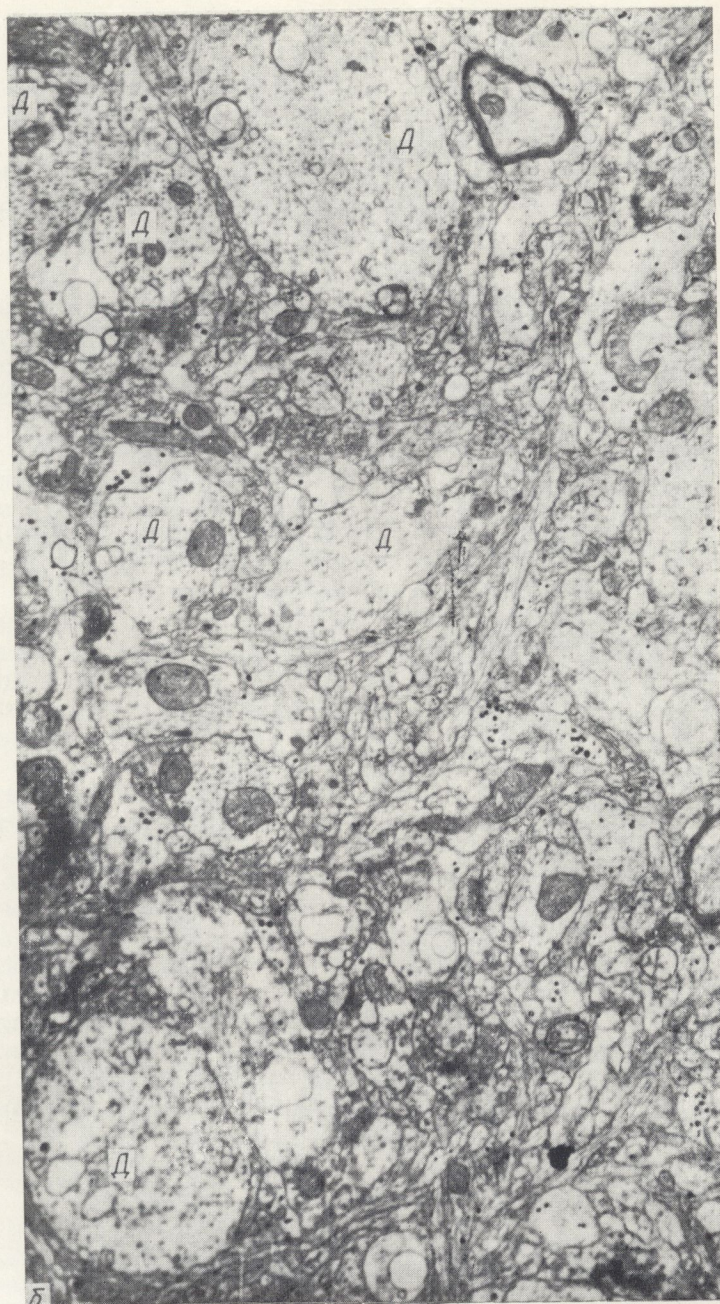


Рис. 2. Поперечно срезанные апикальные дендриты пирамидных нейронов сенсомоторной коры после 2 ч высокочастотной электро- стимуляции ядра ВПЛ
б — в симметричном участке противоположного полушария (контроль), Ув. 17 000. Д — дендрит.

муляции: частота 100 Гц, сила раздражающего тока 10 мА, продолжительность импульса 0,5 мс. Ответствовала оптимальная частота ритмической эпилепсии (4 Гц) раздражающее устройство «Рhythmograph», состоящее из анода и катодного электрода, которые усредняли на приборе Nihon Cohden.

После двухчасовой стимуляции талламического ядра перфузировали 1,25 % раствором с добавлением 10 % глицерина в области пререза вырезали кусочек коры, который обрабатывали стандартными методами для электронной микроскопии. Срезы определяли с помощью микроанализатора, который затачивали с помощью ультратонкой ультратоме LKB-IV.

Рис. 1. Схема эксперимента.

Просмотр го-

Рис.

Параметры стимуляции находятся в пределах физиологических для электрофизиологии, но таким образом обеспечить тропность области коры. Острое воздействие, вызывающее нембуталовую эпилепсию.

При электрофизиологическом исследовании коры, взятого с правильной проекцией, срезанных апикальных дендритов специфического ядра отсутствовали (решительно) плотный матрикс идентифицировать к ним аксонным контактам, которые отсутствовали. Изменений не хранились как метрическим участком, но организация не отличалась от

Зная размеры пирамидных нейронов, а также учитывая апикальные колонки, измененные дендриты, изменения

муляции: частота 100 Гц, длительность отдельного прямоугольного импульса 0,1—0,2 мс, сила раздражающего тока 0,1—0,2 мА. Такая интенсивность отдельного стимула соответствовала оптимально выраженному первичному ответу в сенсомоторной коре. В процессе ритмической электростимуляции периодически через определенные интервалы времени тестировали вызванные потенциалы в сенсомоторной коре в ответ на низкочастотное (4 Гц) раздражение ядра *VPL*. В работе использовали прибор «*Physiograph*» японской фирмы San'ei Instrument, состоящий из стимулятора, двух усилителей и катодного осциллографа. Вызванные потенциалы усредняли на ЭВМ «Atac» японской фирмы Nihon Cohden.

После двухчасовой электростимуляции специфического таламического ядра *VPL* мозг животного перфузировали 1,25 % раствором глутарового альдегида с добавлением параформа. Локально под электродом в области представления передней конечности вырезали кусочек сенсомоторной коры, который обрабатывали обычными методами, применяемыми для электронной микроскопии. На полутонких срезах определяли слои коры (обычно II—III), на которые затачивали пирамидку заключенной в эпоксидную смолу ткани для последующей резки на ультратоме LKB-IV. Ультратонкие срезы, ориенти-

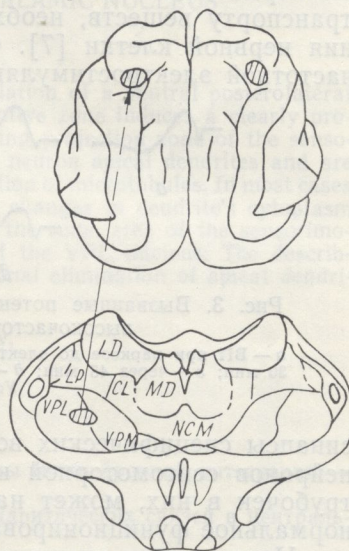


Рис. 1. Схема эксперимента. Заштрихованы пункты представления передней конечности в таламусе и коре.

рованные параллельно поверхности коры, окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца. Просмотр готовых срезов проводили в электронном микроскопе JEM-100 В.

Результаты исследований и их обсуждение

Параметры применяемой в данных опытах электростимуляции находятся в пределах физиологически допустимых значений и обычны для электрофизиологических экспериментов. Их подбирали специально таким образом, чтобы исключить коагуляцию раздражаемого ядра и обеспечить транссинаптическую передачу сигнала в проекционную область коры. Однако мы превращали эту стимуляцию в экстремальное воздействие, предъявляя её длительно — в течение 2 ч — в условиях нембуталового наркоза.

При электронно-микроскопическом анализе участка сенсомоторной коры, взятого сразу после стимуляции, бросается в глаза нарушение правильной пространственной организации микротрубочек в поперечном срезанных апикальных дендритах на стороне стимулируемого специфического ядра. В большинстве случаев микротрубочки полностью отсутствовали (рис. 2, а). Однако митохондрии и рыхлый электронно-плотный матрикс в цитоплазме дендритов сохранялись. В этом случае идентифицировать дендритные профили можно было по прилежащим к ним аксонным окончаниям и наличию активных зон синаптических контактов, которые при данном воздействии практически не изменялись. Изменений не наблюдалось также в мягкотных волокнах, где сохранялись как миелиновые оболочки, так и нейрофиламенты. В симметричном участке коры противоположного полушария пространственная организация микротрубочек сохранялась, и дендритные профили не отличались от наблюдаемых в норме (рис. 2, б).

Зная размеры поперечных профилей апикальных дендритов пирамидных нейронов в разных слоях коры (в данном случае II—III слои), а также учитывая свойство апикальных дендритов формировать вертикальные колонки, мы можем идентифицировать наблюдаемые нами измененные дендриты именно как апикальные (рис. 2). Как уже отмечалось, изменения в дендритах касались, прежде всего, правильной про-

странственной организации микротрубочек. Известно, что микротрубочки являются очень лабильным компонентом цитоплазмы дендритов и разрушаются при действии различных экстремальных факторов [2]. Экспериментально показано, что микротрубочки имеют отношение к транспорту веществ, необходимых для метаболизма и функционирования нервной клетки [7]. Следовательно, действие длительной высокочастотной электростимуляции, адресованной через аксо-дендритические

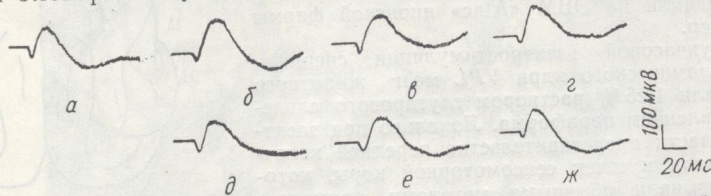


Рис. 3. Вызванные потенциалы сенсомоторной области коры в процессе высокочастотной электростимуляции ядра VPL.
а — ВП при наркозе до электростимуляции, б — через 20 мин стимуляции; в — через 30 мин; г — через 45 мин; д — через 60 мин; е — через 90 мин; ж — через 120 мин. Усреднение из 12 реализаций.

синапсы специфических волокон к апикальным дендритам пирамидных нейронов сенсомоторной коры, вызывая деструкцию системы микротрубочек в них, может нарушить транспорт веществ, обеспечивающих нормальное функционирование дендритов.

Имея четкую картину ультраструктурных изменений в цитоплазме апикальных дендритов, мы решили проверить, сказываются ли эти изменения на генезе вызванных ответов сенсомоторной области коры. Имеется большое количество литературных источников, где говорится о возможной роли дендритов в происхождении вызванных ответов в коре на стимуляцию соответствующих афферентов. Особенно это касается отрицательной фазы вызванных потенциалов (ВП), происхождение которой связывается с постсинаптической активацией апикальных дендритов пирамидных нейронов [3]. При анализе вызванных ответов в сенсомоторной коре через различные интервалы в процессе высокочастотной стимуляции было обнаружено, что ВП практически не изменяются после 2 ч предъявляемого ритмического раздражения (рис. 3), именно тогда, когда в цитоплазме апикальных дендритов четко регистрируется деструкция микроструктуры. В вызванном ответе и, в частности, в его отрицательной фазе не меняется ни амплитуда, ни длительность (рис. 3, а, ж). Что касается некоторого увеличения амплитуды и длительности отрицательной фазы ВП в начальном периоде стимуляции (рис. 3, б), то оно, вероятно, может быть следствием частотной потенциации таламо-кортикальных афферентов, о чем свидетельствуют также некоторые ультраструктурные данные [4].

Не отрицая полностью роли апикальных дендритов пирамидных нейронов в генезе ВП коры, наши данные, вероятно, могут дать некоторый новый подход к этому традиционно трудному вопросу неврологии. Изменения в ультраструктуре цитоплазмы апикальных дендритов пирамидных нейронов коры после длительной высокочастотной стимуляции специфического ядра таламуса носят обратимый характер. Следовательно, можно рекомендовать данное экспериментальное воздействие в качестве модели функционального выключения дендритов пирамидных нейронов коры. В частности, её можно использовать для изучения различных аспектов условнорефлекторной деятельности животного.

A prolonged (2 h) (VPL) nucleus of the pronounced changes in the rimotor cortex. The changes manifested in a disturbance of the dendritic microtubules have no essential effect on the cortex at low-frequency procedure may be in the cortex of cerebral cortex.

Institute of Higher Neurophysiology, Academy of Sciences, Moscow

1. Бабминдра В. П., Л.: Наука, 1982.
2. Косицын Н. С. Микротрубочки в нервной системе.
3. Ройтбак А. И. Вещные проблемы эволюции. с. 164—219.
4. Сердюченко В. М. Аспекты адаптивного поведения. В кн. «Адаптация и коэволюция», М., 1980.
5. Colonnier M., Rumberg D. Mechanism of the axon hillock.
6. Jasper H. H., Ajmone L. N. The use of axonal stimulation in the study of the brain. p. 83—112.
7. Kreutzberg G. W. The use of axonal stimulation in the study of the brain. p. 83—112.
8. Shepherd G. M. J. The use of axonal stimulation in the study of the brain. p. 83—112.
9. Sholl D. A. The use of axonal stimulation in the study of the brain. p. 83—112.

Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии АН СССР, Москва

N. S. Kositzyn, V. M. Serdyuchenko, S. V. Getmantsev

PYRAMIDAL NEURON APICAL DENDRITE REACTION
IN THE SENSORIMOTOR CORTEX TO PROLONGED RHYTHMIC
ELECTROSTIMULATION OF A RELAY THALAMIC NUCLEUS

Summary

A prolonged (2 h) rhythmic (100 Hz) electrostimulation of a ventral posterolateral (VPL) nucleus of the thalamus in a fore limb representative zone induces a clearly pronounced changes in the microstructure of the corresponding projection zone of the sensorimotor cortex. The changes occur, chiefly, in pyramidal neuron apical dendrites and are manifested in a disturbance of a regular spatial organization of microtubules. In most cases the dendritic microtubules disappear completely. Evident changes in dendrite's cytoplasm have no essential effect on evoked responses recorded in the same area of the sensorimotor cortex at low-frequency (4 Hz) electrostimulation of the VPL nucleus. The described procedure may be recommended as a model for functional elimination of apical dendrites of cerebral cortex pyramidal neurons.

Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology,
Academy of Sciences, USSR, Moscow

Список литературы

1. Бабминдра В. П., Брагина Т. А. Структурные основы межнейронной интеграции. — Л.: Наука, 1982.—164 с.
2. Косицын Н. С. Микроструктура дендритов и аксодендритических связей в центральной нервной системе. — М.: Наука, 1976.—198 с.
3. Ройтбак А. И. Вызванные потенциалы коры больших полушарий. — В кн.: Современные проблемы электрофизиологических исследований нервной системы. М., 1964, с. 164—219.
4. Сердюченко В. М., Косицын Н. С., Гетманцев С. В. Структурно-функциональные аспекты адаптивных процессов в локальной корковой зоне проекции условного раздражителя. — В кн.: Роль нервной системы (молекулярно-биологические аспекты) в адаптации и компенсации функций организма: Тез. докл. Иркутск, 1981, с. 56—57.
5. Colonnier M., Rossignol S. On the heterogeneity of the cerebral cortex. — In: Basic Mechanism of the Epilepsies. Boston: Little Brown, 1969, p. 29.
6. Jasper H. H., Ajmone-Marsan C. A stereotaxic atlas of the diencephalon of the cat. — Ottawa: The Nation. Res. Council, 1954.
7. Kreutzberg G. W., Schubert P. The cellular dynamics of intraneuronal transport. — In: The use of axonal transport for studies of neuronal connectivity. — Amsterdam, 1975, p. 83—112.
8. Shepherd G. M. The synaptic organization of the brain. New York: Oxford University Press, 1979.—436 p.
9. Sholl D. A. The organization of the cerebral cortex. London, 1956.

Институт высшей нервной
деятельности и нейрофизиологии
АН СССР, Москва

Поступила в редакцию
14.12.82