

16. Серков Ф. Н. Механизмы, регулирующие возбудимость нейронов коры головного мозга // Актуальные проблемы современной физиологии. — Киев: Наук. думка, 1986. — С. 99—102.
17. Серков Ф. Н. Кортикальное торможение. — Киев: Наук. думка, 1986. — 246 с.
18. Серков Ф. Н., Волков И. О. Реакции нейронов слуховой коры на тоны разной частоты и электрическое раздражение соответствующих отделов улитки // Нейрофизиология. — 1983. — 15, № 5. — С. 527—534.
19. Серков Ф. Н., Волков И. О. Внутриклеточные реакции нейронов первой слуховой области мозга на тоны разной частоты и электрическое раздражение волокон спирального ганглия // Там же. — 1984. — 16, № 1. — С. 123—131.
20. Серков Ф. Н., Волков И. О. Характеристика постимпульсного и латерального торможения в нейронах первой слуховой области коры мозга // Там же. — 1984. — 16, № 2. — С. 194—201.
21. Серков Ф. Н., Волков И. О. Роль коркового торможения в анализе звуковых раздражений // Физиол. журн. — 1985. — 31, № 5. — С. 569—578.
22. Серков Ф. Н., Казаков В. Н. Нейрофизиология таламуса. — Киев: Наук. думка, 1980. — 260 с.
23. Серков Ф. Н., Сторожук В. М. Реакции нейронов слуховой коры на звуковые раздражения // Нейрофизиология. — 1969. — 1, № 2. — С. 147—156.
24. Серков Ф. Н., Яновский Е. Ш. Постсинаптические потенциалы нейронов слуховой коры кошки // Там же. — 1971. — 3, № 4. — С. 339—349.
25. Серков Ф. Н., Яновский Е. Ш. Реакции нейронов слуховой коры на раздражение генукуло-кортикальных волокон // Там же. — 1972. — 4, № 3. — С. 227—236.
26. Серков Ф. Н., Яновский Е. Ш. Локальное торможение в дендритах коры головного мозга // Докл. АН СССР. — 1985. — 282, № 3. — С. 750—752.
27. Серков Ф. Н., Яновский Е. Ш., Тальнов А. Н. Электрофизиологическое исследование проведения афферентных импульсов через медиальное коленчатое тело // Нейрофизиология. — 1979. — 11, № 6. — С. 515—523.
28. Сторожук В. М. Функциональная организация нейронов соматической коры. — Киев: Наук. думка, 1974. — 270 с.
29. Фомовский Б. И. Реакции нейронов проекционной зоны вибрисс соматосенсорной коры кошки на афферентную активацию // Нейрофизиология. — 1979. — 11, № 6. — С. 550—559.
30. Фомовский Б. И. Реакции нейронов первой соматосенсорной области коры на раздражение различных вибрисс // Там же. — 1980. — 12, № 2. — С. 124—130.
31. Яновский Е. Ш. Торможение в нейронах слуховой коры при ритмическом раздражении генукуло-кортикальных волокон // Физиол. журн. — 1985. — 31, № 4. — С. 398—406.
32. Яновский Е. Ш. Тормозящие нейроны в структурной организации коркового торможения // Там же. — 1985. — 31, № 5. — С. 554—561.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 05.05.88

УДК 611.813.12:557.533.35

Синаптическая плотность в ассоциативной области (поле 5b) коры мозга кошки

Ф. Н. Серков, Ю. А. Гончар

При электронно-микроскопическом изучении синаптического аппарата коры головного мозга ее синаптическая плотность обычно определяется по числу профилей аксонных терминалей, приходящемуся на единицу площади среза. С помощью этого способа получены данные, характеризующие синаптическую плотность в слуховой [2] и ассоциативной [7] областях коры мозга. Однако для более точной характеристики синаптической плотности необходимы данные о числе разных синаптических аксонных терминалей в определенном (1 мм^3) объеме коры мозга. Для этого стереологами предложено несколько формул, по которым, учитывая число профилей синаптических терминалей на исследуемой поверхности (NA), можно определить их число в исследуемом объеме (NV). С помощью этих формул определено число синаптических терминалей в 1 мм^3 зрительной области (поле 17) коры мозга кошки [5, 6, 12]. В настоящей работе представлены результаты о размере и форме аксонных терминалей, их общем удельном объеме и числе в 1 мм^3 в поле 5b ассоциативной области коры мозга кошки.

Методика

Работа выполнена на материале, полученном из мозга пяти молодых кошек массой 2,5—3,0 кг. Животных под глубоким нембуталовым наркозом (50 мг/кг, внутривенно) перфузировали через сердце вначале полиглюкином (800 мл) с добавлением гепарина (25 000 ед.), а затем фиксатором — 2,5 %-ным раствором глутаральдегида, приготовленным на 0,1 моль/л фосфатном буфере (2000 мл, pH 7,4). Мозг извлекали из черепа, в течение 2 ч дофиксировали при 4 °C тем же фиксатором, а затем из области коры супрасильвиевой извилины, соответствующей полю 5b, забирали образцы ткани мозга, ориентированные перпендикулярно поверхности коры и включающие всю толщину серого и часть белого вещества. Образцы дополнительно фиксировали в 1 %-ном растворе четырехоксида осмия, приготовленном на 0,1 моль/л фосфатном буфере (pH 7,4), затем обезживали в спиртах восходящей концентрации и заключали в эпон по общепринятой методике. Для светооптического изучения из полученных блоков ткани мозга изготавливали полутонкие срезы (1—2 мкм), ориентированные перпендикулярно поверхности коры. Срезы окрашивали 1 %-ным раствором парафенилендиамина и (или) 1 %-ным раствором толундинового синего и определяли в них слои коры. Ультратонкие срезы (40—50 нм) определенных слоев коры, изготовленные на ультрамикротоме LKB-8800, помещали на опорные сетки, на которых их контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца. Затем срезы изучали и серийно фотографировали на фотопластинки на электронном микроскопе JEM-100CX при увеличении 10 000 и 14 000. Подсчет и определение типов аксонных терминалей и синаптических контактов осуществляли на фотоотпечатках при общем увеличении 35 000. На этих же фотоотпечатках с помощью полуавтоматического устройства для количественной обработки изображений МОР АМ/03 Райхерт-Юнг (Австрия) определяли наибольший диаметр, длину периметра, площадь сечения и фактор формы (коэффициент элонгации) аксонных терминалей в разных слоях поля 5b. Число синаптических терминалей в 1 мм³ коры мозга (NV) определяли по стереологическим формулам: $NV = \frac{NA}{H}$ и $NV = \frac{NA}{H+t}$. Этим способом получены данные о числе терминалей в зрительной коре мозга обезьян и кошек [5, 13, 15]. В соответствии с приведенными формулами $NV = \frac{NA}{H}$ или $NV = \frac{NA}{H+t}$, где NA — число терминалей на 1 мм² поверхности среза, H — средняя длина синаптического контакта исследуемых терминалей (средняя длина хорды контакта, умноженная на 4/π, t — толщина среза (0,05 мкм)). К полученным результатам прибавляли число терминалей (34 %), содержащих типичные синаптические пузырьки, но не имеющих видимого синаптического контакта. Поскольку у значительного числа терминалей синаптические контакты не обнаруживаются, нами проведено определение числа терминалей в 1 мм³ коры мозга с помощью тех же стереологических формул, но по усредненной длине терминалей D , определяемой как $\frac{L+t}{2}$, где L — средняя длина, а t — средняя ширина исследованных терминалей.

Кроме этого, число терминалей определяли вычислением объема исследуемой ткани по «теоретической толщине» среза [10], используя формулу: $\tau = 2 \sqrt{R^2 - \left(\frac{a^2}{2}\right)^2}$, где R — усредненный радиус терминали, a — диаметр самой маленькой терминали (в нашем случае 0,2 мкм). Объем исследуемой ткани (V) соответствует площади среза (S), умноженной на «теоретическую толщину». Предполагается, что в этом объеме находится столько терминалей, сколько их на площади S . По этому значению определяли затем число терминалей в 1 мм³ коры мозга.

Результаты

На представленной электронограмме среза коры мозга в поле 5b ассоциативной области видны элементы нейропила коры мозга: поперечные сечения дендритов и нервных волокон, дендритные шипики, профили аксонных терминалей, содержащие синаптические пузырьки; среди терминалей различаются аксодендритные, аксошиповые терминали и терминали без видимого синаптического контакта (рис. 1).

Изучено 110 таких электронограмм общей площадью 2 718 мкм². На этой площади обнаружено 730 профилей аксонных терминалей, что

составляет 272 терминали на 1 000 мкм² площади среза, из которых 174 имели синаптические контакты, 98 содержали синаптические пузырьки, но видимых синаптических контактов не имели. Суммарная площадь всех 730 профилей оказалась равной 282,3 мкм², что составляет 9,8 % всей исследованной площади срезов. Форма профилей терминалей на срезе очень разнообразна. Наряду с почти круглыми профилями имеется большое число значительно удлиненных профилей треугольной и полукруглой форм (рис. 1, 2). Так как форма профиля

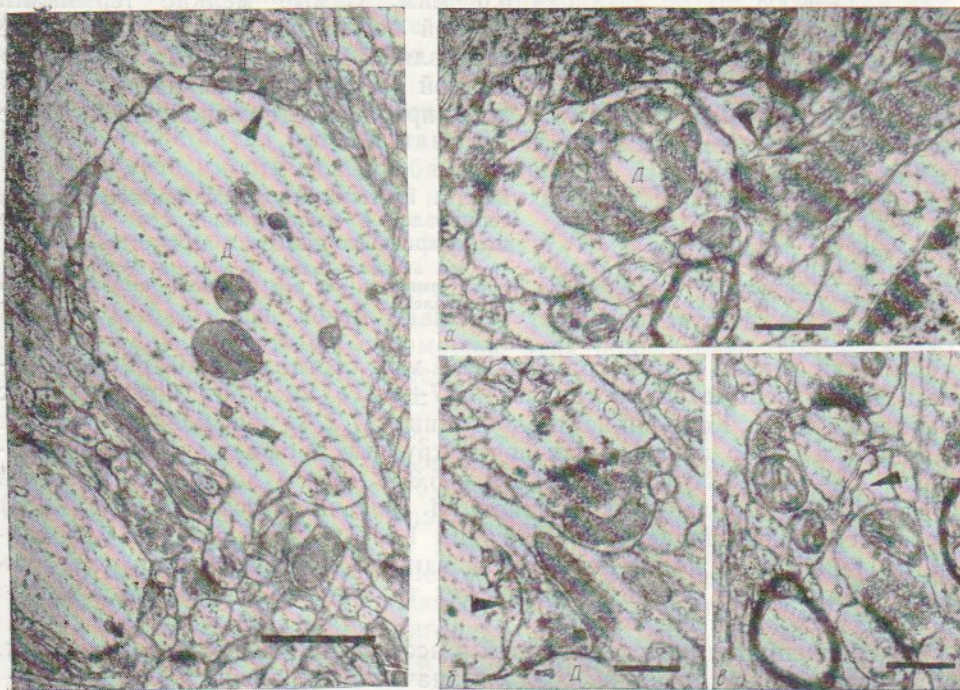


Рис. 1. Участок нейропиля ассоциативной коры головного мозга кошки (поле 5b).

В центре — крупный дендрит (Д) с двумя отходящими от него шипиками (внизу и центре и справа), на вершинах которых ассиметричные контакты образуют аксонные терминали с круглыми синаптическими пузырьками; на стволе дендрита симметричный контакт образует аксонная терминаль с мелкими уплощенными пузырьками (указана стрелкой). Калибровка — 1 мкм.

Рис. 2. Аксонные терминали в ассоциативной коре (поле 5b) мозга кошки:

а — ассиметричные контакты на стволе дендрита образуют аксонные терминали с круглыми пузырьками (стрелкой указана крупная терминаль с большим числом синаптических пузырьков); б — в центре аксошиповый синапс (стрелкой указан продольный разрез терминали с уплощенными пузырьками, образующей симметричный контакт на дендрите Д); в — в центре «бесконтактная» терминаль, вверху и внизу — аксодендритные синапсы. Калибровка на а—в — 0,5 мкм.

существенно зависит от того, как и в каком месте через терминаль прошел разрез, то определить истинную форму терминали по форме ее профиля практически невозможно. В этом отношении интерес представляют профили тех терминалей, по которым разрез прошел вдоль всей терминали. На рис. 2, а, б видны профили нескольких таких терминалей. Один из них имеет форму почти равнобедренного треугольника, у вершины которого видна претерминальная часть аксона (рис. 2, б). Основанием треугольника служит контактная поверхность терминали. На основании такой формы профиля терминали можно полагать, что данная терминаль имеет форму усеченного конуса диаметром основания 0,62 мкм и высотой 0,9 мкм. Рядом с этим профилем виден профиль, также начинающийся узкой претерминальной частью аксона, которая расширяясь превращается в профиль терминали длиной около 2 мкм и шириной 0,6 мкм. Вблизи с этим профилем виден профиль другой терминали эллипсоидной формы. Значительное число профилей имеет форму полукруга или диска, диаметр или хорда которых представлена контактной поверхностью терминали (рис. 2, б, в).

Размеры профилей аксонных терминалей варьируют в широких пределах. Длина их колеблется от 0,2 до 2,4 мкм, составляя в среднем 0,9 мкм, ширина — от 0,1 до 1,8 мкм, в среднем 0,64 мкм. На рис. 3 представлена гистограмма распределения исследованных аксонных терминалей по длине периметра их профилей на срезе. Из этих результатов видно, что длина периметра сечения терминалей колеблется от 0,3 до 6,0 мкм. Самые мелкие терминалы длиной периметра 1,0 мкм и меньше составляют только 3 %. Периметр длиной от 1 до 4 мкм имеют 86,9 % всех профилей терминалей. Крупные

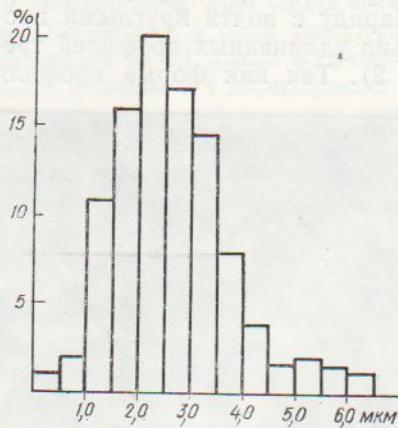


Рис. 3. Гистограмма распределения аксонных терминалей в ассоциативной коре (поле 5b) мозга кошки по длине их периметра.

По оси абсцисс — длина периметра профиля аксонной терминали, по оси ординат — число аксонных терминалей.

терминалы длиной периметра больше 4 мкм составляют 10,1 %. В среднем длина периметра составляет $(2,7 \pm 0,41)$ мкм при коэффициенте вариации 48 %. Коэффициент элонгации у 7,7 % профилей составляет 1,0—1,1, т. е. это круглые или почти круглые профили, у 53 % профилей — 1,2—1,7, у 34 % — 1,8—3,0 и у 5,3 % — от 3 до 10. Усредненный коэффициент элонгации составляет 1,4. Большое число (свыше 60 %) профилей с коэффициентом элонгации 1,0—1,7 указывает на преобладание терминалей цилиндрической и эллипсоидной форм. Это подтверждается данными о форме профилей тех терминалей, по которым разрез прошел вдоль всей терминали.

Усредненная длина терминалей в ассоциативной коре мозга кошки, определяемая на основании средних значений их длины и ширины, колебалась от 0,15 до 1,5 мкм, составляя в среднем $(0,7 \pm 0,15)$ мкм при коэффициенте вариации 44 %. Длина синаптического контакта (H) колебалась у разных нейронов от 0,22 до 1,4 мкм, составляя в среднем 0,78 мкм. Длина контакта зависит от места его расположения на нейроне: аксопикировые контакты имеют меньшую длину, чем аксодендритные и аксосоматические. Контакты крупных терминалей могут быть как длинными, так и короткими.

«Теоретическая толщина» среза, вычисленная по формуле, описанной в методике, составляла 0,76 мкм, а исследуемый объем — $0,76 \text{ мкм} \times 1000 \text{ мкм}^2 = 760 \text{ мкм}^3$. В этом объеме находится 272 терминали, следовательно, в 1 мм^3 — $357 \cdot 10^6$ терминалей. При определении числа терминалей в 1 мм^3 коры мозга по формуле $NV = \frac{NA}{D}$ оно составило $353 \cdot 10^6$ терминалей, из которых $240 \cdot 10^6$ с синаптическим контактом и $113 \cdot 10^6$ — без него, а по формуле $NV = \frac{NA}{D+t}$ — $332 \cdot 10^6$ ($225 \cdot 10^6$ с контактом и $107 \cdot 10^6$ без него).

При определении числа терминалей на основании данных о средней длине синаптического контакта по формуле $NV = \frac{NA}{H}$ в 1 мм^3 коры мозга насчитывалось $348 \cdot 10^6$ терминалей с синаптическим контактом, а по формуле $NV = \frac{NA}{H+t}$ — $328 \cdot 10^6$. Так как «бесконтактные» терминалы содержали типичные синаптические пузырьки, а «отсутствия» у них контактов объясняется тем, что разрез через терминаль прошел мимо контакта, то они отнесены нами к синаптическим. Поэтому общее число синапсов в 1 мм^3 составляло $338 \cdot 10^6$.

Как показали наши результаты, суммарная площадь сечений аксонных терминалей на срезах составляет 9,8 % общей площади исследованных срезов. Согласно широко применяемому в стереологии [1, 4] принципу Dellesse, доля структурного компонента ткани в объеме соответствует его доле на площади их сечения. Из этого следует, что в коре мозга поля 5b аксонные терминали занимают 9,8 % ее объема, т. е. в 1 мм^3 коры на долю аксонных терминалей приходится $98 \cdot 10^6 \text{ мкм}^3$. Так как при гистологической обработке сжатие коры мозга и ее элементов происходит примерно одинаково [11], это соотношение действительно и для нативной коры поля 5b.

Число синаптических терминалей в 1 мм^3 коры мозга кошки в поле 5b колеблется по результатам наших исследований, от $328 \cdot 10^6$ до $353 \cdot 10^6$ в зависимости от способа определения. Наиболее обоснованными и близкими к реальным, по нашему мнению, являются результаты,

полученные при использовании формул: $NV = \frac{NA}{H+t}$ и $NV = \frac{NA}{D+t}$.

Так как средняя длина синаптического контакта и усредненная длина терминали оказались почти равными, то число терминалей в 1 мм^3 коры мозга, определяемое с помощью этих показателей, почти одинаково: $328 \cdot 10^6$ и $332 \cdot 10^6$ соответственно. Это на 14—15 % больше, чем в зрительной области (поле 17) коры мозга кошки, в 1 мм^3 которой находится, по одним данным [5, 15], $284 \cdot 10^6$, по другим [12] — $276 \cdot 10^6$ терминалей. Возможно, что такое повышение синаптической плотности в ассоциативной коре мозга обусловлено широкой конвергенцией на ее нейронах афферентной импульсации из разных афферентных систем. Поскольку число терминалей в 1 мм^3 коры мозга, полученное на основании данных о средней длине терминали и средней длине синаптического контакта, почти одинаково, то можно считать, что средняя длина терминали является пригодным показателем для определения числа терминалей в коре мозга по приведенным выше стереологическим формулам.

В 1 мм^3 коры поля 5b кошки находится около 50 000 нейронов, так что в среднем на один нейрон приходится около 6 500 аксонных терминалей. Это несколько больше, чем на нейронах зрительной коры [5], но значительно меньше, чем на крупных пирамидных клетках Беца [9].

Среди 6 500 терминалей, находящихся на нейроне ассоциативной коры, около 5500 терминалей с круглыми синаптическими пузырьками и асимметричным контактом, около 450 с мелкими удлиненными пузырьками и симметричным контактом и 500 — с крупными удлиненными пузырьками и примесью большего или меньшего числа круглых пузырьков. Показано, что аксонные терминали с уплощенными пузырьками и симметричным контактом являются ГАМК-ергичными [8]. На основании этого можно считать, что они выполняют тормозящую функцию. Из 6 500 синапсов, находящихся на нейроне ассоциативной коры, около 3200 находится на дендритах, 3000 — на дендритных шипиках и 260—300 — на соме нейрона. Среди терминалей, находящихся на соме нейрона, 150—200 — с мелкими удлиненными синаптическими пузырьками и симметричным контактом и 60—80 с круглыми пузырьками и асимметричным контактом. Первые являются предположительно тормозящими, вторые — возбуждающими. Несмотря на сравнительно небольшое число аксосоматических синапсов, они, вследствие своего месторасположения непосредственно на соме нейрона и даже на аксонном холмике [13, 14], могут оказывать на нейрон быстрое и мощное тормозящее и возбуждающее действие.

Большая часть терминалей с уплощенными пузырьками и симметричным контактом расположена на телах нейронов и крупных дендритах. Однако некоторое число таких терминалей в ассоциативной коре находится на мелких дендритах и дендритных шипиках. Предполагается, что вызываемые ими тормозные постсинаптические потенциалы

могут, не влияя существенным образом на уровень мембранного потенциала сомы нейрона, оказывать местное тормозящее действие на импульсы, поступающие только к данному дендриту [3]. В отличие от соматического торможения, осуществляющего угнетение деятельности всего нейрона, это дендритное торможение может избирательно выключать афферентный вход в нейрон через одну из ветвей дендритного дерева.

Выводы

Ассоциативная область (поле 5b) коры мозга кошки характеризуется высокой синаптической плотностью. В 1 мм^3 коры мозга этой области находится $326-358 \cdot 10^6$ аксонных терминалей. Суммарный объем всех аксонных терминалей в ассоциативной коре составляет 9,8 % ее объема.

SYNAPTIC ORGANIZATION IN THE ASSOCIATIVE CORTEX (AREA 5B) OF THE CAT BRAIN

F. N. Serkov, Yu. A. Gonchar

The quantitative results from determination of synaptic organization of the cat associative cortex (area 5b) obtained in electron-microscopic investigation of this area are presented. It is established that 1 mm^3 of the cortex in that area contains $326-358 \times 10^6$ of axon terminals. The volume of axon terminals in the associative cortex amounts to 9.8 % of its total volume.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences of the Ukrainian SSR, Kiev

1. Автандилов Г. Г., Яблучанский Н. И., Губенко В. Г. Системная стереометрия в изучении патологического процесса. — М.: Медицина, 1981. — 190 с.
2. Серков Ф. Н., Генис Е. Д. Количественная и качественная характеристика синапсов в разных слоях слуховой коры // Нейрофизиология. — 1980. — 12, № 2. — С. 131—137.
3. Серков Ф. Н., Яновский Е. Ш. Локальное торможение в дендритах коры головного мозга // Докл. АН СССР. — 1985. — 282, № 3. — С. 750—752.
4. Ташке К. Введение в количественную цито-гистологическую морфологию // Бухарест: Изд-во АН СРР. — 1980. — 191 с.
5. Beaulieu C., Colonnier M. A laminar analysis of the number of round-asymmetrical and flat-symmetrical synapses on spines, dendritic trunks and cell bodies in area 17 of the cat // J. Comp. Neurol. — 1985. — 231, N 1. — P. 180—189.
6. Cragg B. C. The development of synapses in the visual system of the cat // Ibid. — 1975. — 160, N 1. — P. 147—166.
7. Gruner I. E., Hirsch G. C., Sotelo C. Ultrastructural features of the isolated suprasylvian gyrus in the cat // Ibid. — 1974. — 154, N 1. — P. 1—28.
8. Houser C. R., Vaughn J. E., Hendry S. H. et al. GABA neurons in the cerebral cortex // Cerebral cortex. / Edc. by A. Peters, E. J. Jones. — New York; London: Plenum press, 1984. — Vol. 2. — P. 63—91.
9. Kaiserman-Abramov I., Peters A. Some aspects of the morphology of Betz cells in the cerebral cortex of the cat // Brain Res. — 1972. — 43, N 2. — P. 527—546.
10. Leranth C., Zoborsky L., Marton J., Palkovits M. Quantitative studies on the supra-optic nucleus in the rat. 1. Synaptic organization // Exp. Brain Res. — 1975. — 22, N 1. — P. 509—523.
11. Moliner R. E. The histology of the postcruciate gyrus in the cat. 1. Quantitative studies // J. Comp. Neurol. — 1961. — 117, N 1. — P. 43—62.
12. O'Kusky J., Colonnier M. A laminar analysis of the number of neurons, glia and synapses in the visual cortex (area 17) of adult macaque monkeys // J. Comp. Neurol. — 1982. — 210. — P. 278—290.
13. Peters A., Proskauer C. C., Ribak C. E. Chandelier cells in rat visual cortex // J. Comp. Neurol. — 1981. — 206, N 3. — P. 397—416.
14. Somogyi P., Freund T. F., Cowey A. The axo-axonic interneuron in the cerebral cortex of the rat, cat and monkey // Neuroscience. — 1982. — 7, N 11. — P. 2577—2608.
15. Winfield D. A. The postnatal development of synapses in the visual cortex of the cat, and effects of eyelid closure // Brain Res. — 1981. — 206, N 2. — P. 166—171.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 16.02.88