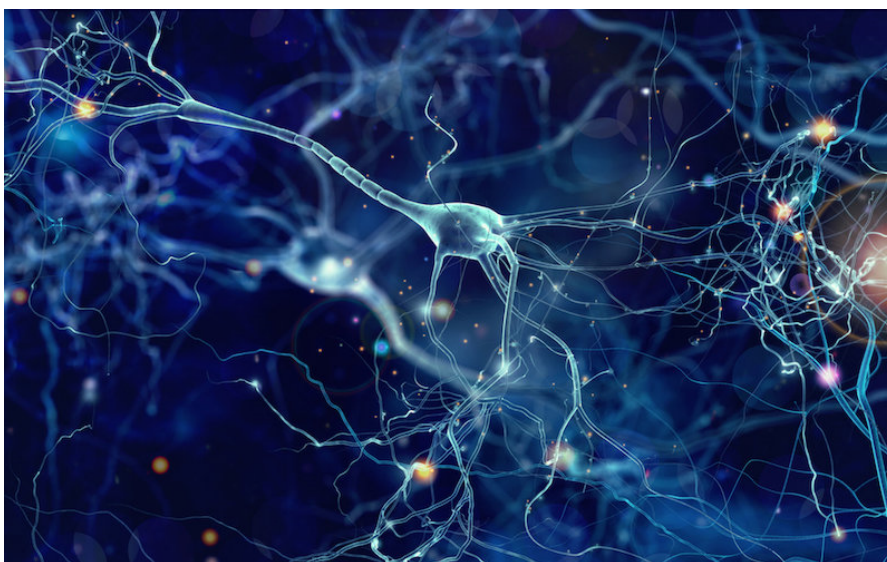


В. В. Жуков, К. А. Судоплатов, В. Н. Самойлина

**ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕЙРОНОВ,
МОДЕЛИРУЕМЫЕ НА ОСНОВЕ УРАВНЕНИЙ
ХОДЖКИНА — ХАКСЛИ**

Часть 2

**Нейрофизиологические свойства
и синаптические потенциалы нейронов**



**Калининград
2024**

БАЛТИЙСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. ИММАНУИЛА КАНТА

В. В. Жуков, К. А. Судоплатов, В. Н. Самойлина

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕЙРОНОВ,
МОДЕЛИРУЕМЫЕ НА ОСНОВЕ УРАВНЕНИЙ
ХОДЖКИНА — ХАКСЛИ

Методическое пособие

Часть 2

Нейрофизиологические свойства
и синаптические потенциалы нейронов

Учебное электронное издание

Калининград
Издательство Балтийского федерального университета им. И. Канта
2024

© БФУ им. И. Канта, 2024
ISBN 978-5-9971-0881-6

Рецензенты

М. А. Никитин, д-р физ.-мат. наук, проф.,
Балтийский федеральный университет им. И. Канта;

В. Г. Александров, д-р биол. наук, проф.,
Институт физиологии им. И. П. Павлова

Жуков, В. В.

Электрофизиологические свойства нейронов, моделируемые на основе уравнений Ходжкина — Хаксли : методическое пособие. Часть 2: Нейрофизиологические свойства и синаптические потенциалы нейронов / В. В. Жуков, К. А. Судоплатов, В. Н. Самойлина [Электронный ресурс] : учебное электронное издание. — Калининград : Издательство БФУ им. И. Канта, 2024. — <https://publish.kantiana.ru/catalog/non-periodical/uchebnye-posobiya/978-5-9971-0881-6/>

Вторая часть методического пособия продолжает описание работы с компьютерной реализацией математической модели возбудимых свойств мембраны на основе уравнений Ходжкина — Хаксли, которые модифицированы и дополнены описаниями ионных токов и синаптических процессов, открытых позднее. Рассматривается моделирование нейрофизиологических свойств нейронов и их синаптических сигналов. Как и в предыдущей части, в основу текста положен авторский перевод руководства по работе с первым вариантом программы (CCWin и VCWin), который был частично переработан, дополнен новыми иллюстрациями и адаптирован под интерфейс более поздней версии (SimCC и SimVC).

Пособие предназначено для обеспечения лабораторного практикума по физиологии и биофизике возбудимых тканей, клеточной нейробиологии, а также математическому моделированию биологических процессов.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
6. Нейрофизиологические свойства нейронов.....	5
<i>Эксперимент 11.</i> Свойства переходного K^+ -тока (А-ток)	6
<i>Эксперимент 12.</i> Высокопороговый Ca^{2+} -ток и Ca^{2+} -активируемый K^+ -ток	10
<i>Эксперимент 13.</i> IАНР — медленный Ca^{2+} -активируемый K^+ -ток: регулятор возбудимости клетки	12
<i>Эксперимент 14.</i> Сон и бодрствование в одиночном нейроне: I_T -переходящий (транзистентный) и низкопороговый Ca^{2+} -ток.....	15
<i>Эксперимент 15.</i> I_M -деполяризация и медленно активирующийся K^+ -ток	19
<i>Учебные вопросы.</i> Множественные ионные токи в центральных нейронах	24
7. Синаптические потенциалы	25
<i>Эксперимент 16.</i> Возбуждающие постсинаптические потенциалы	25
<i>Эксперимент 17.</i> Тормозные синаптические потенциалы.....	32
<i>Учебные вопросы.</i> Синаптические потенциалы	37
<i>Резюме.</i> Построение нейронной сети	37
Список рекомендуемой литературы	39

ВВЕДЕНИЕ

Первая часть пособия имела целью сформировать базовые знания о генерации мембранного потенциала (МП) и потенциала действия (ПД) в гигантском аксоне кальмара. Первые исследователи мозга млекопитающих представляли, что центральная нервная система (ЦНС) состоит из сложной сети взаимосвязанных нейронов, обладающих свойствами, по сути, идентичными тем, которые были установлены Ходжкином и Хаксли для гигантского аксона кальмара. Предполагалось, что эти нейроны генерируют простые ПД, основанные на входе Na^+ и выходе K^+ и взаимодействующие друг с другом посредством простых возбуждающих и тормозных связей. Однако по мере расширения круга исследований центральных нейронов встал вопрос об идентичности ионных (а следовательно, и молекулярных) механизмов возбуждения мембраны сомы и аксонов. Генерируют ли их соматические мембраны ПД так же, как и хорошо к тому времени изученный гигантский аксон головоногих моллюсков, или, возможно, у них есть более сложные ионные токи? Важную роль в рассмотрении этого вопроса сыграли исследования крупных нейронов брюхоногих моллюсков, таких как обитающие в морях *Aplysia californica* и *Anisodoris (Peltodoris) nobilis*, прудовик *Lymnaea stagnalis*, а также сухопутные улитки рода *Helix*.

Детальное изучение трансмембранных токов нейронов на всех уровнях развития нервной системы (включая типы животного царства и даже некоторые растения) выявило сложный набор ионных проводимостей, которые могут быть смешаны вместе в различных сочетаниях, чтобы дать каждому типу клеток возможность генерировать уникальные типы ПД. Тем не менее понимание того, как создается трансмембранный ионный ток и как он влияет на МП-клетки, дает базовые знания, необходимые для понимания топографически сложных нейронов с их десятками ионных токов. Моделирование более сложных моделей активности — это просто добавление токов, которые все следуют одним и тем же основным правилам. В данном пособии рассмотрены лишь некоторые из этих трансмембранных токов нейронов.

Для обеих частей пособия сохранена единая нумерация глав, экспериментов и рисунков. Также единым является список рекомендуемых к изучению учебников и монографий. При этом список цитируемых статей дается раздельно для каждой части пособия.

6. НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕЙРОНОВ

Работая с крупными нейронами морских брюхоногих моллюсков, таких как *Peltodoris* (*Anisodoris*), и используя методы, основанные на подходах Ходжкина и Хаксли, исследователи Джон Коннор и Чак Стивенс [10] обнаружили новый тип тока K^+ , который не был выявлен в гигантском аксоне кальмара. В нейронах беспозвоночных деполяризация мембраны приводила к активации тока K^+ , который, в отличие от тока Ходжкина и Хаксли, инактивировался (выключался) со временем, несмотря на поддерживаемую деполяризацию (рис. 21).

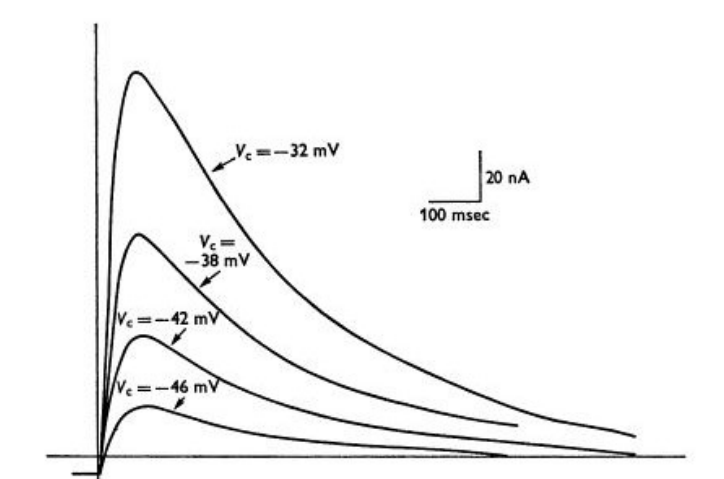


Рис. 21. Примеры выходящего тока, называемого А-током, который активируется в нейронах голожаберных моллюсков путем деполяризации

Примечание. Мембранный потенциал клетки удерживается на значении -100 мВ в режиме фиксации напряжения. Переход к другому значению фиксации МП приводит к активации выходящего тока K^+ , который инактивируется в течение сотен миллисекунд. Внимание: в интервале деполяризации от -46 до -32 мВ амплитуда А-тока увеличивается.

Включение этого нового «переходного» K^+ -тока в модель возбуждения позволяет увидеть, что этот ток активируется в промежутке между нервными импульсами и поэтому замедляет скорость генерации ПД (рис. 22), так что клетка проводит импульсы с меньшей скоростью, чем аксон кальмара [11]. Этот K^+ был назван А-током. Рассмотрим этот ток и его влияние на паттерн генерации ПД в наших собственных экспериментах.

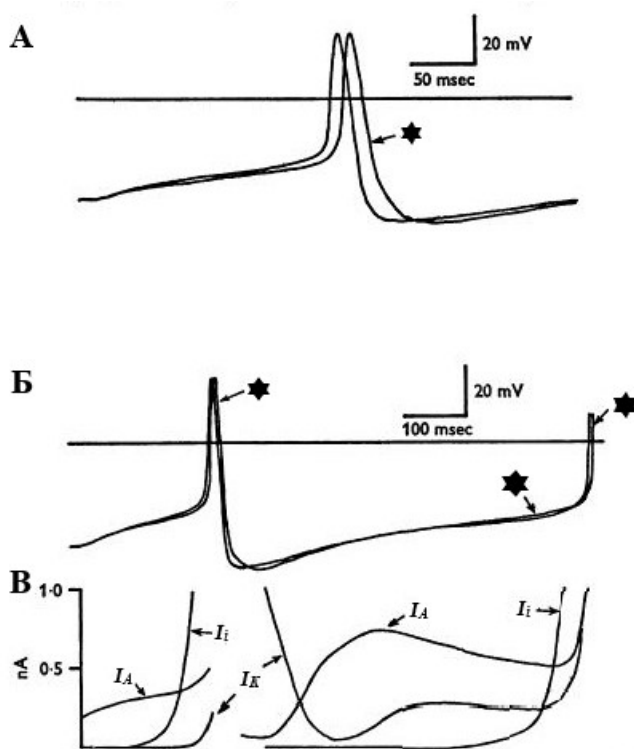


Рис. 22. Вычислительная модель генерации потенциала действия в нейронах, обладающих А-током

Примечание. А, Б — примеры реального и вычисленного (обозначается *) ПД в соответствии с уравнениями, полученными из свойств, выявленных с помощью анализа фиксации напряжения основных токов; В — рассчитанные мембранные токи, связанные с генерацией ПД в Б. Обозначения I_i относятся к входящему току Na^+ , I_K — к выпрямляющему задержанному току K^+ . Токи не отображаются во время генерации ПД из-за их большой амплитуды.

Эксперимент 11 Свойства переходного K^+ -тока (А-ток)

Рассмотрим А-ток, изучив его влияние на паттерн разряда, генерируемого смоделированной клеткой. Из **SimCC** загрузите и запустите **IA.CCS**. Вы увидите, что генерация ПД задерживается (рис. 23, А), а график тока А показывает, что этот ток увеличивается, а затем уменьшается на коротком промежутке времени (рис. 23, В). В реальных экспериментах ток А можно относительно избирательно блокировать путем применения 4-аминопиридина (4-AP). Множественный склероз — это заболевание, при котором блокируется нерв-

но-мышечная передача, что приводит к затруднениям в движении. У некоторых пациентов с рассеянным склерозом 4-АР частично облегчает эту проблему благодаря повышению возбудимости нейронов и аксонов. Можно заблокировать ток I_A , уменьшив его максимальную проводимость (g_A) до 0.

Уменьшив g_A с 1 до 0, выберите в меню **Run** пункт **Overlay** и сравните, как клетка возбуждается с I_A -током и без него (рис. 23, А). Похоже, что этот ток активируется во время деполяризации клетки и тем самым задерживает начало генерации ПД, но не оказывает большого влияния на их форму.

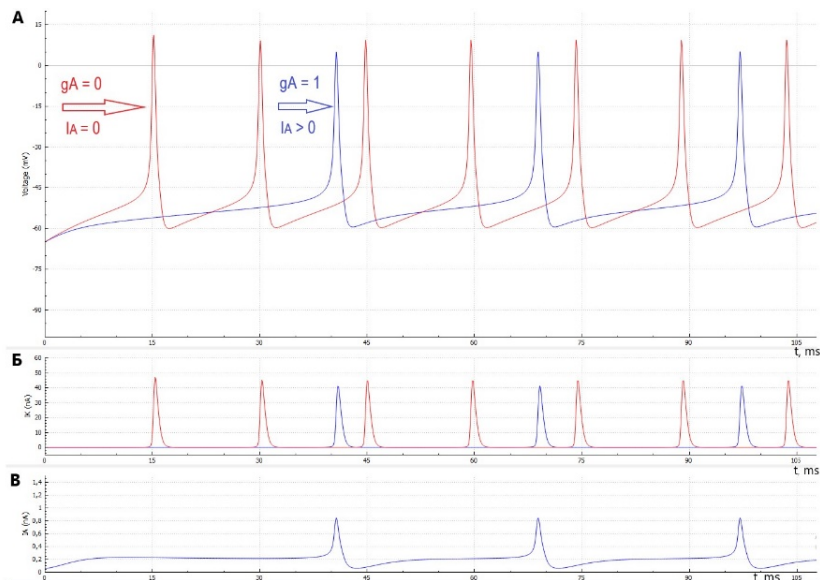
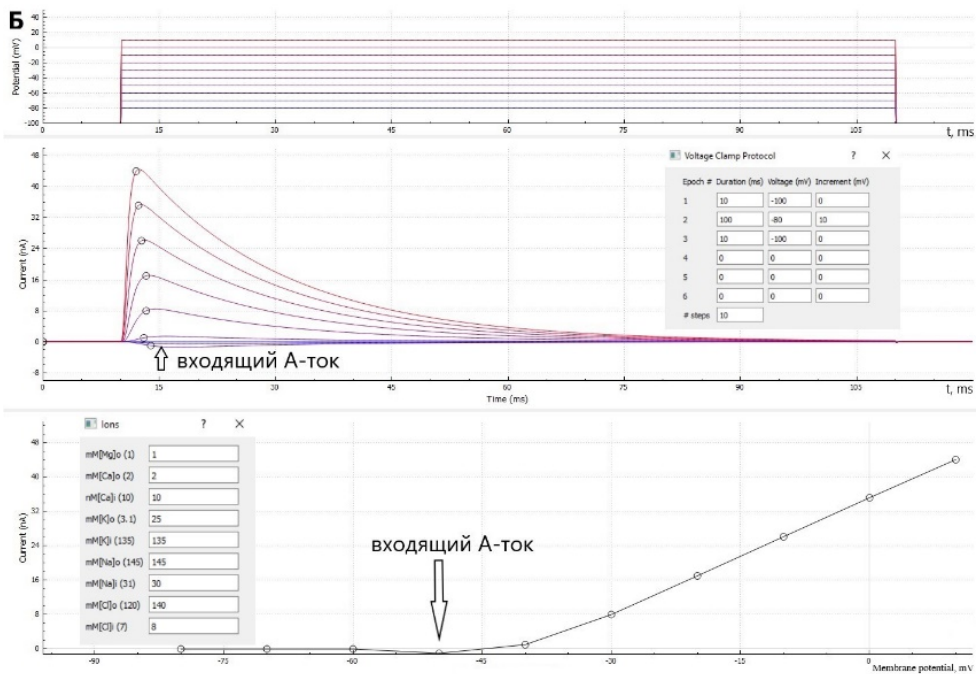
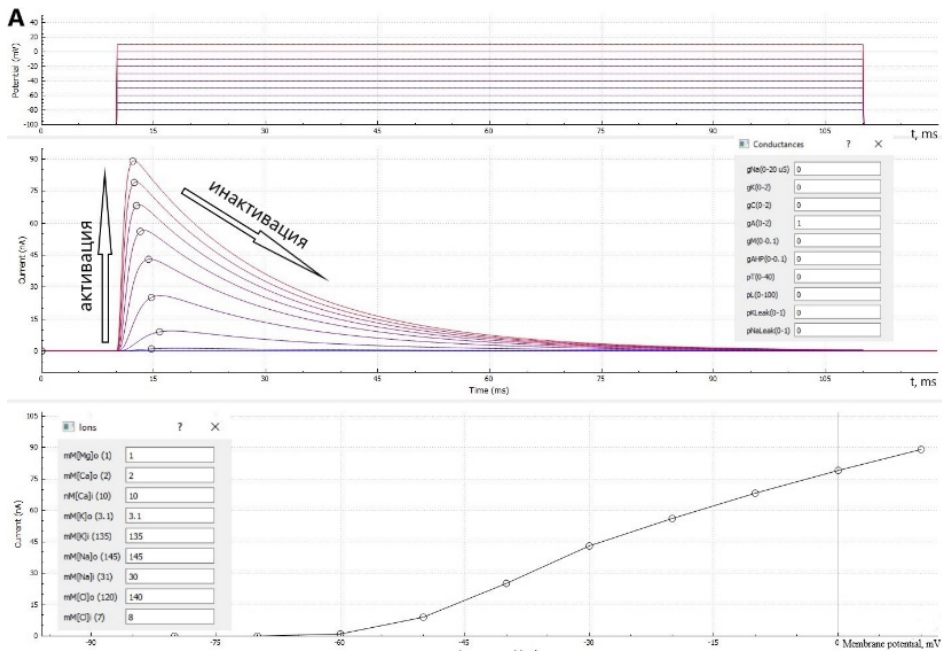


Рис. 23. Активация тока I_A приводит к задержке генерации потенциала действия в моделируемом нейроне

Примечание. Расчет выполнен в приложении **IA.CCS**. Значения g_A устанавливались в закладке Protocol, Conductance: *A* — разряды ПД, полученные при отсутствии ($I_A=0$) и наличии ($I_A>0$) I_A -тока; *B* — динамика тока K^+ ; *B* — динамика тока I_A .

Теперь нужно переключить клетку в режим фиксации напряжения, запустив программу **SimVC**. Современные внутриклеточные усилители позволяют переходить от режима **CC** к **VC** простым нажатием кнопки. Теперь загрузите файл **IA.VCS** с помощью меню **File**.

Для выделения I_A -тока нужно заблокировать проводимость других токов, приравняв их к нулю. Откройте и выполните **Begin** в закладке меню **Run** (рис. 24, А). Видно, что деполяризация клетки приводит к активации, а затем инактивации выходящего тока, а увеличение уровня деполяризации ведет к тому, что этот ток становится больше. Обратим внимание, что увеличение амплитуды является продуктом увеличения как активации тока, так и «движущей силы» на K^+ -ионах, поскольку мы смещаем МП в сторону от E_K .



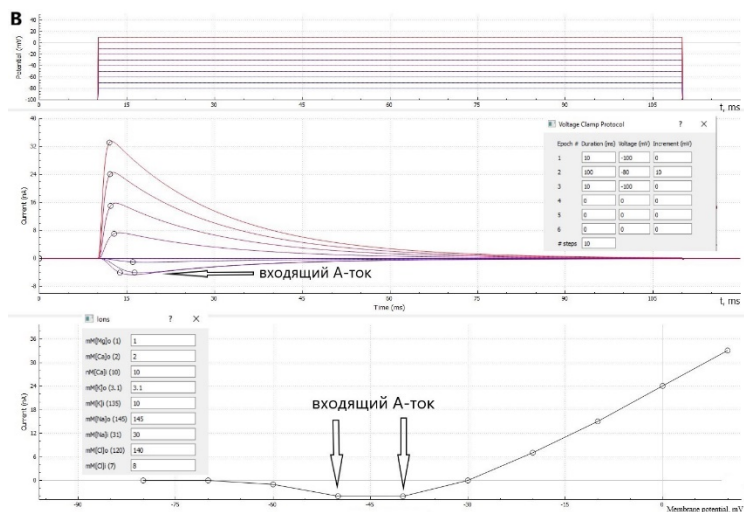


Рис. 24. Демонстрация А-тока моделируемого нейрона в режиме фиксации напряжения:
 А — ионные проводимости и концентрации ионов;
 Б, В — протокол фиксации напряжения и концентрации ионов

Примечание. Последовательность графиков: верхний протокол — фиксации напряжения; средний — динамика трансмембранного тока K^+ (А-ток); нижний — вольт-амперная характеристика А-тока.

Теперь изучим ионную основу А-тока, увеличив внеклеточную концентрацию $[K^+]_o$. Изменим $[K^+]_o$ с 3.1 мМ до 25 мМ. При этом изменится равновесный потенциал для K^+ (E_K) от -100 до -60 мВ (это достигается *in vitro* путем смены омывающего раствора, при этом микроэлектроды остаются в клетке).

Получим записи токов при разных напряжениях фиксации напряжения, выбрав **Begin** в закладке меню **Run**. Обратим внимание на то, что ток не всегда направлен наружу: первые активируемые токи являются входящими (рис. 24, Б). Поскольку ток теперь активируется при МП, отрицательном к потенциалу реверсии K^+ , эти ионы перемещаются в клетку, а не из нее, то есть направление тока K^+ изменяется с выходящего (положительные значения) на входящий (отрицательные значения).

Сходной картины (смещение потенциала реверсии к менее отрицательным значениям и появление входящего А-тока) можно добиться, уменьшив концентрацию K^+ в цитоплазме, например $[K^+]_i = 10$ мМ (рис. 24, В). Такой результат можно получить на гигантском аксоне кальмара, заменив его цитоплазму искусственным раствором.

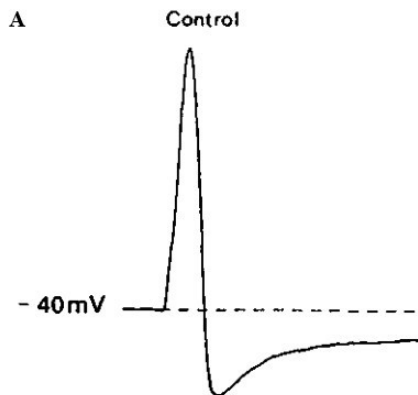
Теперь представим, что вы разработали препарат для изучения позвоночных клеток симпатического ганглия лягушки-быка. Инъекция тока в эти клетки приводит к активации сложного паттерна ПД, которые возникают в

результате активации широкого спектра токов. В конце концов вы продемонстрируете, что существует по крайней мере четыре различных K^+ -тока. Помимо А-тока есть еще два, которые активируются при поступлении Ca^{2+} в клетку во время ПД (I_c и $I_{АНР}$), и один, который активируется при деполяризации (ИМ). Примерно в то же время другие исследователи совершенствуют методы внутриклеточной записи в нейронах млекопитающих *in vitro*. Эти методы включают культивирование нейронов ЦНС млекопитающих и метод срезов *in vitro*. Исследования нейронов ЦНС показали, что пирамидальные клетки коры головного мозга и гиппокампа у животных от грызунов до человека также имеют токи, аналогичные токам симпатического ганглия лягушки, что указывает на широкую распространенность этих токов. Поэтому рассмотрим эти новые K^+ -токи.

Протокол фиксации напряжения и проводимости мембраны установлены одинаковыми для всех 3 экспериментов, а концентрации ионов индивидуальны для каждого эксперимента.

Эксперимент 12 Высокопороговый Ca^{2+} -ток и Ca^{2+} -активируемый K^+ -ток

В гигантском аксоне кальмара реполяризация потенциала действия происходит в результате инактивации тока Na^+ и активации тока K^+ (задержанный выпрямляющий ток), который активируется деполяризацией мембраны в ходе ПД. Однако во многих различных типах клеток было обнаружено, что удаление внеклеточного Ca^{2+} или блокирование каналов Ca^{2+} с помощью непроницающих двухвалентных катионов (таких как кадмий [Cd^{2+}]) приводит к уменьшению реполяризующей фазы потенциала действия и гиперполяризации мембраны после ПД (рис. 25). Этот результат позволяет предположить, что Ca^{2+} поступает в клетку в течение ПД, и это затем активирует K^+ -токи, которые способствуют реполяризации мембраны.



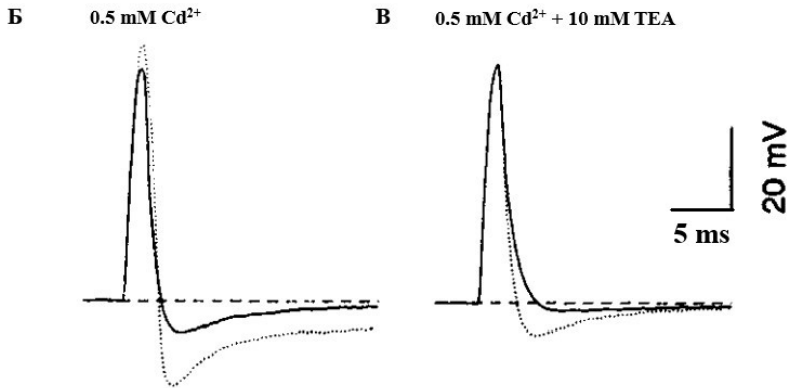


Рис. 25. Важность Ca^{2+} -активируемого тока K^+ , известного как I_c , для генерации потенциала действия в клетках млекопитающих

Примечание. *A* — внутриклеточная запись потенциала действия из симпатического нейрона крысы; *B* — блокирование входа Ca^{2+} в клетку в результате введения во внеклеточный раствор Cd^{2+} , блокирующего Ca -каналы, приводит к заметному уменьшению гиперполяризации после ПД (сравните сплошную линию с пунктирной); *B* — добавление тетраэтиламмония (ТЕА) для блокирования других проводимостей для K^+ ведет к дальнейшему уменьшению следовой гиперполяризации [8].

Для расчета такого тока K^+ нужна не только его модель, но и модель тока Ca^{2+} , который обеспечивает вход этих ионов в клетку во время генерации ПД. Поэтому добавим в нашу модель два дополнительных тока: высокопороговый (активируется только при положительных значениях МП примерно до -30 мВ) ток Ca^{2+} , называемый I_L , и Ca^{2+} -чувствительный и потенциалочувствительный ток K^+ , называемый I_c . Запустите **SimCC**, а затем загрузите и запустите файл параметров **IC.CCS**. Видно, что во время генерации ПД внутриклеточный уровень Ca^{2+} увеличивается. Концентрация Ca^{2+} оценивается как 100 нм в пространстве непосредственно под мембраной со скоростью буферизации Ca^{2+} , которая пропорциональна $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Увеличение $[\text{Ca}^{2+}]_i$ приводит к активации выходящего K^+ -тока I_c , который способствует реполяризации мембраны при ПД (рис. 26). Чтобы проверить эту гипотезу, уменьшите $[\text{Ca}^{2+}]_o$ до 0.01 мМ в меню **Parameters, Ions** и выберите **Overlay** в меню **Run**. Обратите внимание, что I_c минимально активируется во время ПД, а гиперполяризация, которая следует за ним, уменьшается по амплитуде. Однако ПД не расширяется так сильно, как мы могли бы предположить, основываясь на амплитуде I_c до его блокировки. Это происходит потому, что другой ток K^+ , а именно I_k , становится больше (из-за небольшого увеличения длительности и амплитуды ПД) и поэтому частично компенсирует потерю I_c (рис. 26). Это важный момент, поскольку нейроны представляют собой динамические системы, в которых токи взаимодействуют таким образом, что их нелегко понять без помощи компьютерных моделей, подобных этой.

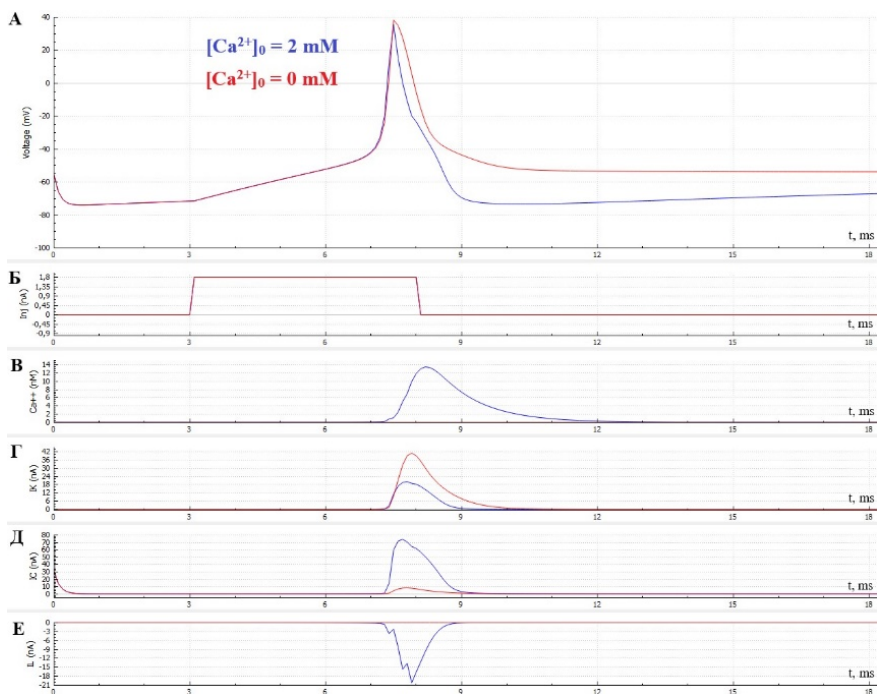


Рис. 26. Добавление Ca^{2+} -активируемого тока K^+ и высокопорогового тока Ca^{2+} помогает реполяризации мембраны после каждого ПД в моделируемом нейроне.

Снижение I_c приводит к уменьшению следовой гиперполяризации, увеличению продолжительности ПД и увеличению амплитуды I_K

Примечание. *A* — записи ПД, рассчитанные для условий присутствия и отсутствия Ca^{2+} в омывающем клетку растворе; *B* — график инъекции в клетку стимулирующего тока; *C* — динамика $[\text{Ca}^{2+}]_i$ в примембранном пространстве; *Г* — динамика трансмембранного тока K^+ ; *Д* — динамика I_c трансмембранного тока K^+ ; *Е* — динамика I_L трансмембранного тока Ca^{2+} .

Эксперимент 13

IANP — медленный Ca^{2+} -активируемый K^+ -ток: регулятор возбудимости клетки

Некоторые нейроны в нервной системе демонстрируют еще один тип Ca^{2+} -активируемого K^+ -тока. Например, внутриклеточное введение деполяризующего импульса тока в пирамидальную клетку из неокортекса человека (срез мозговой ткани, полученный во время нейрохирургического лечения эпилепсии и поддерживаемый живым в специальной камере *in vitro*) приводит к серии ПД, за которыми следует медленная гиперполяризация, известная как «следовая гиперполяризация» (рис. 27, *A*). Она в значительной степени

является результатом активации медленного K^+ -тока, известного как $I_{АНР}$, который активируется в результате поступления Ca^{2+} во время серии ПД. Во время каждого из них Ca^{2+} входит в клетку через свои высокопороговые каналы. Увеличение внутриклеточного Ca^{2+} активирует $I_{АНР}$, который затем слегка гиперполяризует клетку, что приводит к снижению частоты разряда ПД — процесс, известный как адаптация (рис. 27, А). Активация различных рецепторов, включая ацетилхолиновые мускариновые, на пирамидальных клетках коры уменьшает $I_{АНР}$ и, следовательно, увеличивает скорость разряда ПД (рис. 27, Б). Это повышение возбудимости пирамидальных клеток коры головного мозга, как предполагается, является важным фактором, поддерживающим реакцию коры головного мозга во время бодрствования и повышения внимания, а также во время сна со сновидениями, и делает ее менее реактивной в состоянии сонливости и при понижении внимания, а также во время сна без сновидений (медленноволновой сон).

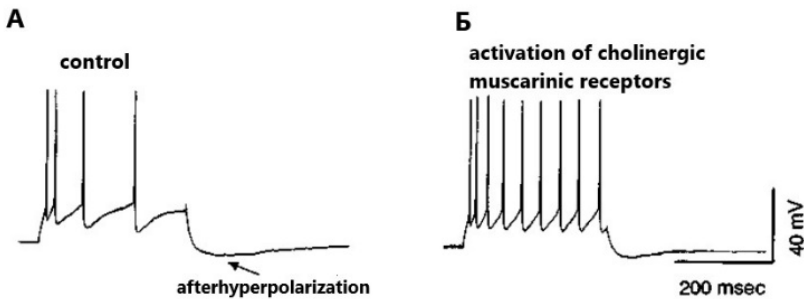


Рис. 27. Реакция пирамидной клетки коры головного мозга человека на деполяризацию мембраны [20]

Примечание. А — внутриклеточная инъекция импульса деполяризующего тока приводит к серии из четырех ПД, скорость генерации которых со временем замедляется (адаптация частоты спайков). Когда импульс деполяризующего тока заканчивается, за ним следует медленная следовая гиперполяризация, которая частично опосредована Ca^{2+} -активируемым током K^+ , известным как $I_{АНР}$; Б — активация холинэргических мускариновых рецепторов метилхолином (МХ) приводит к заметному снижению частотной адаптации спайков и уменьшению медленной следовой гиперполяризации. Эти эффекты возникают за счет снижения $I_{АНР}$.

Чтобы изучить значение $I_{АНР}$, загрузите в **SimCC** и запустите **IАНР.CCS**. Обратите внимание, что во время генерации серии ПД частота их следования уменьшается, а по окончании наблюдается следовая гиперполяризация (рис. 28). Изучение поступления Ca^{2+} в клетку и амплитудно-временного хода $I_{АНР}$ с помощью компьютерной модели позволяет предположить, что увеличение внутриклеточного Ca^{2+} приводит к активации этого тока. Для имитации блокады $I_{АНР}$ на пирамидальной клетке коры головного мозга человека под

действием ацетилхолина необходимо уменьшить $g_{\text{АНР}}$ до 0 и выбрать команду **Overlay** в меню **Run**. Обратите внимание, что теперь клетка генерирует более быструю последовательность ПД, которые не имеют признаков адаптации частоты спайков (рис. 28). Вы также можете проверить Ca^{2+} зависимость этого тока, уменьшив $[\text{Ca}^{2+}]_0$ до 0.1 мМ возвращением $g_{\text{АНР}}$ к 0.06 нС.

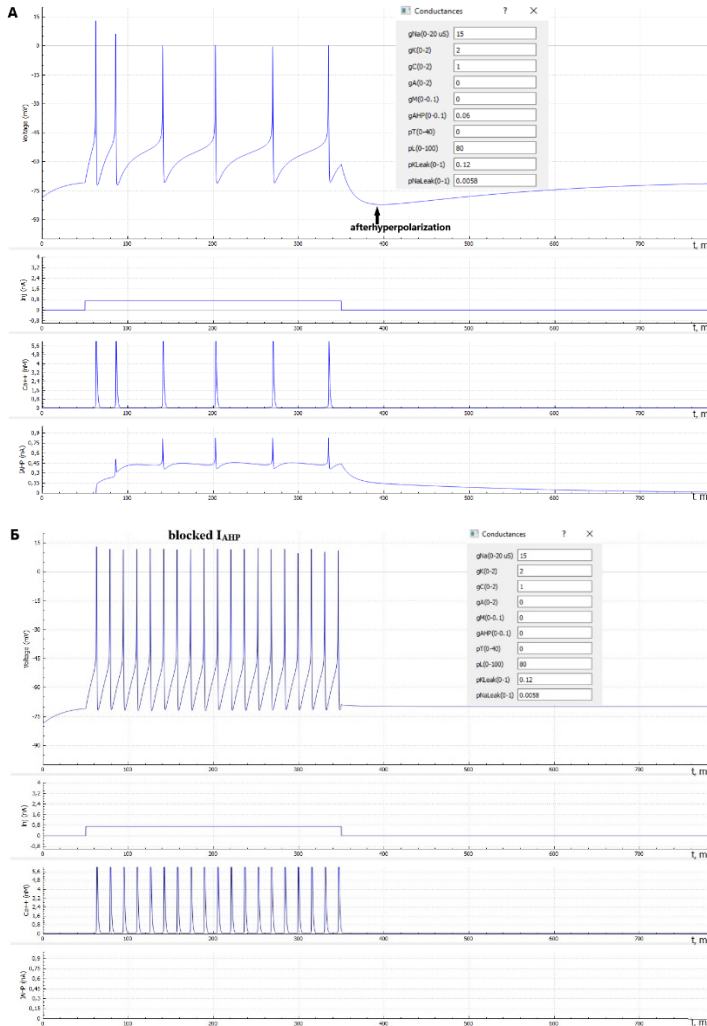


Рис. 28. Медленный Ca^{2+} -активируемый ток K^+ ($I_{\text{АНР}}$) приводит к замедлению скорости генерации ПД и медленной гиперполяризации после серии ПД в моделируемом нейроне

Примечание. *A* — записи вызванных ПД, а также графики инъекции деполяризующего клетку тока, динамики $[\text{Ca}^{2+}]_i$ и тока $I_{\text{АНР}}$ при наличии $g_{\text{АНР}}$; *B* — те же записи, сделанные после выключения $g_{\text{АНР}}$. На вставках приведены значения ионных проводимостей мембраны нейрона.

Эксперимент 14

Сон и бодрствование в одиночном нейроне: I_T-переходящий (транзиентный) и низкопороговый Ca²⁺-ток

Первые исследователи, записавшие данные с нейронов в мозге спящих животных, сделали замечательное открытие. Герберт Джаспер, Дэвид Хубель и Эдвард Эварте независимо друг от друга обнаружили, что вместо того, чтобы молчать во время сна без сновидений (медленноволновой сон), как можно было бы ожидать, многие клетки разряжаются всплесками ПД вместо более независимых серий одиночных спайков, типичных для бодрствующего животного [16]. Действительно, внутриклеточная регистрация во время медленноволнового сна релейных клеток таламуса, передающих информацию от сетчатки к зрительной коре, показала наличие медленных спайков, лежащих в основе разрядов спящего мозга (рис. 29, вспышки). Переход к бодрствованию или сну со сновидениями был связан с деполяризацией МП, отсутствием этих медленных спайков и разрядов, а также с генерацией ПД в более регулярной манере (сон со сновидениями также известен как REM-сон из-за быстрых движений глаз, рис. 29).

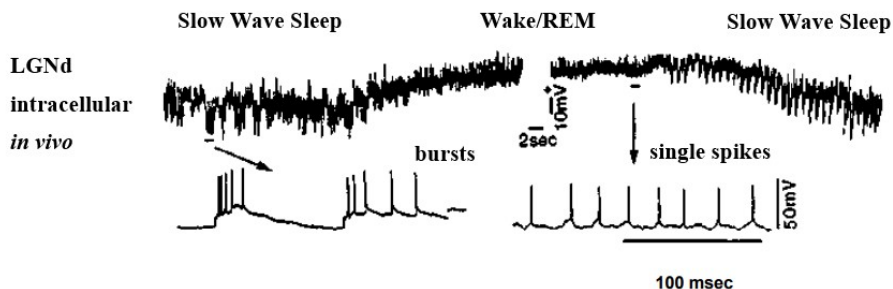


Рис. 29. Внутриклеточная запись от релейной клетки таламуса при переходе от медленного сна к фазе быстрого движения глаз (REM, БДГ), сопровождаемой сновидениями

Примечание. Во время медленного сна эта клетка генерирует всплески ПД (bursts, дополнительно показаны в более растянутой шкале времени). При переходе в фазу быстрого сна (REM) или же бодрствования МП деполяризуется на 10—20 мВ и клетка генерирует серию одиночных импульсов (также представлены в расширенной шкале времени). Обратный переход к медленному сну связан с гиперполяризацией мембраны [13].

Дополнительные внутриклеточные исследования, как *in vivo*, так и *in vitro*, проведенные несколькими группами исследователей [14; 15; 21], раскрыли ионные механизмы этого поразительного и важного изменения актив-

ности нейронов при переходе от сна к бодрствованию. Внутриклеточные записи с релейных клеток таламуса показывают, что они имеют два режима генерации ПД. При относительно гиперполяризованном МП внутриклеточная инъекция импульса деполяризующего тока имеет результатом активацию низкопорогового Ca^{2+} -спайка, который затем активирует вспышку из 3—5 ПД (рис. 30, режим вспышки). Однако, если клетка находится при -63 мВ, внутриклеточная инъекция того же импульса тока приводит только к пассивному ответу клетки, который формируется резистивными и емкостными свойствами клетки. Если клетка деполяризуется еще больше (до -53 мВ), то тот же импульс тока приводит к серии ПД, которые, в отличие от ПД пирамидальных клеток коры, не демонстрируют заметного уменьшения частоты разряда ПД (рис. 30, транзиторный режим). Таким образом, даже одиночные нейроны демонстрируют изменения в активности в зависимости от цикла сна и бодрствования. Наличие в клетках таламуса дополнительного режима генерации ПД во время медленноволнового сна обусловлено свойствами особого типа Ca^{2+} -тока, известного как низкопороговый (или переходный) Ca^{2+} -ток.

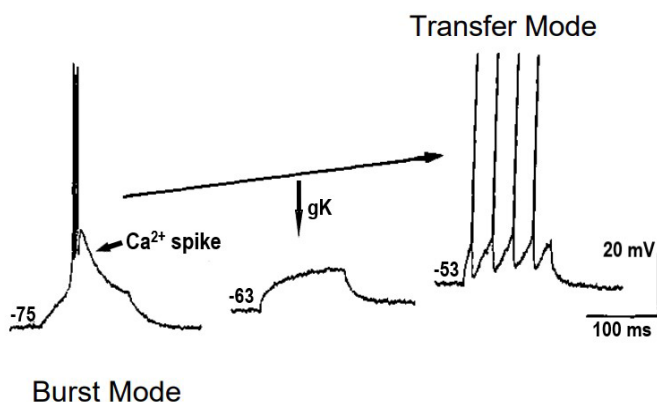
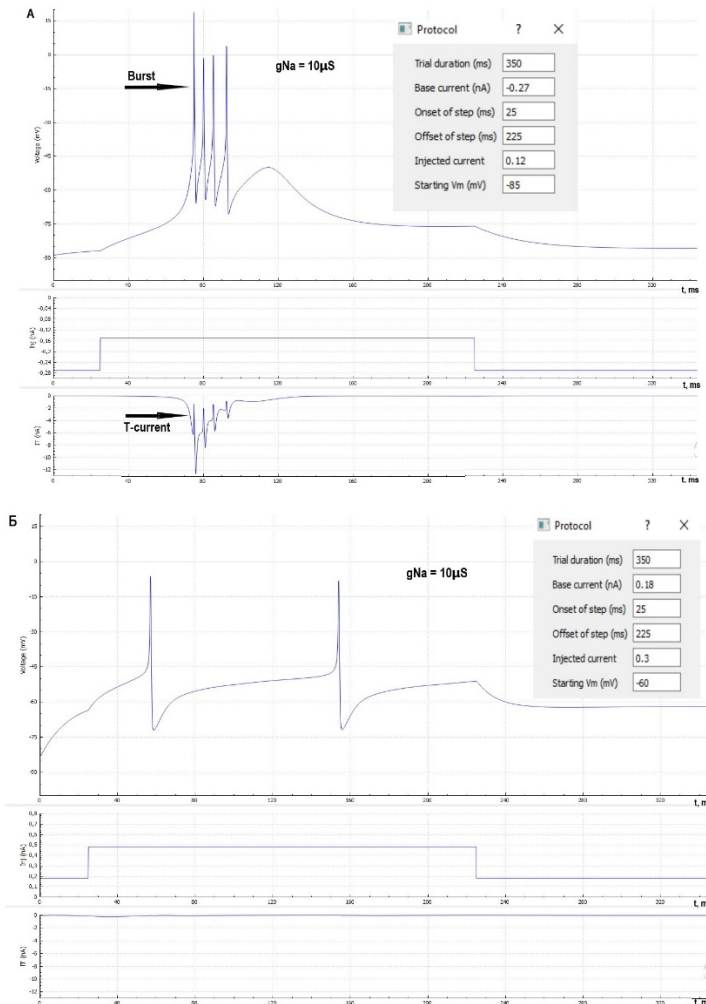


Рис. 30. Два разных типа возбуждения, зависящие от мембранного потенциала, наблюдаются в одних и тех же таламических релейных нейронах таламуса

Примечание. Внутриклеточная инъекция импульса деполяризующего тока в нейрон таламуса, поддерживаемый в переживающем срезе таламуса *in vitro*, приводит к медленному всплеску Ca^{2+} и вспышке ПД, если клетка находится на уровне -75 мВ. Такой же импульс тока вызывает пассивный ответ, если МП клетки составляет -63 мВ, и серию из четырех ПД, если мембрана тонически деполяризована до -53 мВ. Вспышка разряда при -75 мВ обусловлена наличием сильного низкопорогового тока Ca^{2+} в этих клетках.

Чтобы изучить свойства этого тока, загрузите и запустите **IT.CCS** в **SimCC** (рис. 31, А). Обратите внимание на то, что деполяризация предварительно гиперполяризованной модельной клетки приводит к генерации всплеска ПД поверх медленного Ca^{2+} -спайка. Также на экране компьютера

можно видеть амплитуду и временной ход Т-тока, лежащего в основе этого медленного спайка (рис. 24, А, I_T -ток). Далее деполяризуем нейрон до -60 мВ, изменив **Base current** (nA) на 0.18 и **Starting Vm** (mV) на -60 в **Parameters**, **Protocol**, и выберите **Begin**. Теперь клетка генерирует устойчивую последовательность ПД без вспышек разрядов (рис. 31, Б). Отсутствие вспышек при деполяризованных МП указывает на то, что ток, лежащий в основе вспышки, сильно зависит от напряжения и инактивируется деполяризацией. Чтобы изучить свойства этого тока более подробно, изолируем медленный спайк от генерации ПД, применив к клетке тетродотоксин (TTX). Загрузите **IT.CCS** и измените g_{Na} с 15 на 0 в меню **Parameters**, **Conductions**, тем самым блокируя зависимую от напряжения проводимость для Na^+ . Теперь выберите **Begin**, чтобы повторить импульс тока, и обратите внимание на медленный всплеск на вершине пассивного МП (рис. 31, В).



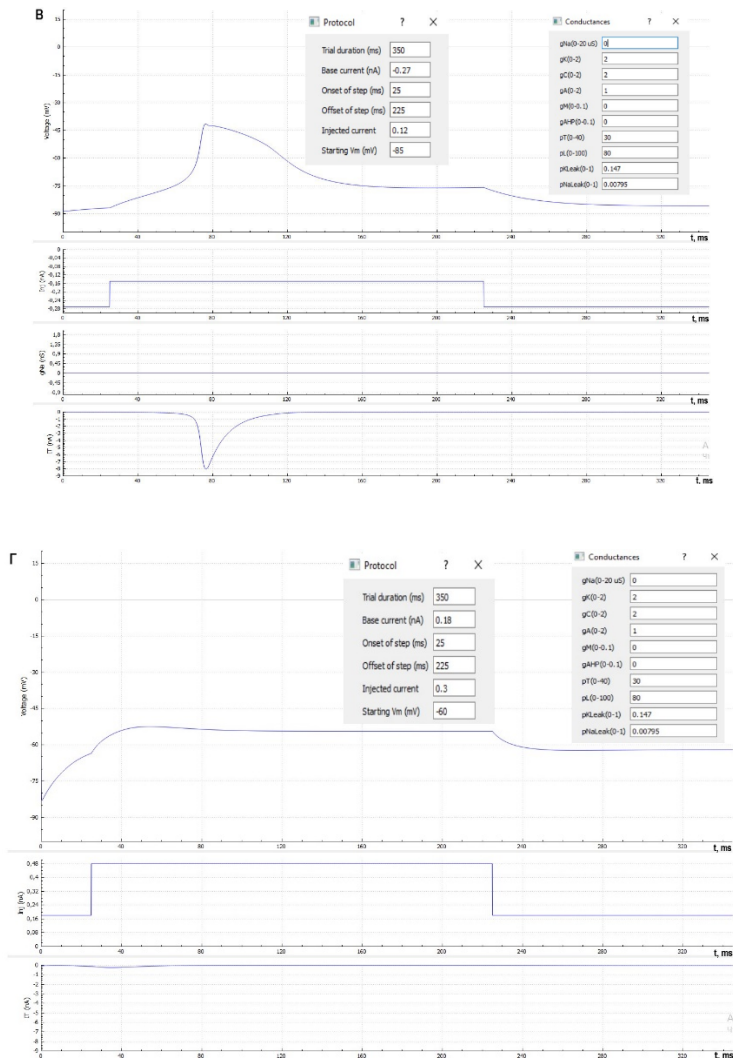


Рис. 31. Переходный ток Ca^{2+} генерирует импульсные разряды при гиперполяризованных мембранных потенциалах в модельной клетке

Примечание. *A* — инъекция импульса деполяризующего тока в клетку этой модели « таламического реле » приводит к всплеску потенциалов действия вследствие активации I_T ; *B* — деполяризация клетки до -60 мВ инактивирует Т-ток, и теперь клетка не взрывается; *B, Г* — блокада тока Na^+ тетродотоксином выявляет медленный всплеск Ca^{2+} и отсутствие этого тока, когда клетка тонически деполяризована до -60 мВ. На вставках приведены протоколы экспериментов и значения электрических проводимостей мембраны для основных ионных токов. Последние различаются лишь значением g_{Na} : $10 \mu\text{S}$ (*A* и *B*) и $0 \mu\text{S}$ (*B* и *Г*).

Кинетика тока, лежащего в основе этого медленного спайка, значительно медленнее, чем у быстрого ПД, что приводит к длительной деполяризации клетки. Теперь можно экспериментировать с концентрацией ионов в омывающем растворе и обнаружить, что при снижении $[Ca^{2+}]_o$ до 0.1 мМ медленный спайк блокируется. Это указывает на то, что он генерируется в результате поступления Ca^{2+} в клетку. Действительно, этот спайк генерируется током Ca^{2+} , известным как переходный ток, или Т-ток. Как и ток Na^+ , лежащий в основе генерации ПД, Т-ток инактивируется при деполяризации; поэтому постоянная деполяризация клетки приводит к полной инактивации этого тока и исчезновению медленных спайков. Такое свойство Т-тока лежит в основе способности таламических нейронов переходить от вспышек разрядов во время сна к нормальной генерации ПД во время бодрствования. Как естественным образом достигается эта деполяризация? Нейроны таламуса деполяризуются в результате высвобождения нейротрансмиттеров из систем ствола мозга, которые отвечают за поддержание бодрствования в течение дня.

Интересно, что некоторые препараты, обладающие седативным побочным действием, например антигистаминные, блокируют рецепторы, участвующие в поддержании этой деполяризации центральных нейронов. Например, активация H_1 -подтипа гистаминергических рецепторов на релейных клетках таламуса снижает $rKLeak$, что приводит к тонической деполяризации этих клеток. Активный ингредиент снотворных препаратов, отпускаемых без рецепта, является антагонистом H_1 -рецепторов и, блокируя деполяризующее действие гистамина, гиперполяризует нейроны таламуса, возвращая их в режим сна [18].

Эксперимент 15

I_M -деполяризация и медленно активирующийся K^+ -ток

До сих пор мы видели, что нейроны могут генерировать множество различных форм ПД через взаимодействие различных ионных токов. Нейротрансмиттеры могут модулировать эти паттерны посредством изменений в этих токах. Пример такого типа нейромодуляции, который мы рассмотрим, был обнаружен в симпатических ганглиозных клетках лягушки-быка Дэвидом Брауном и Полом Адамсом [20]. Эти исследователи получили записи с симпатических ганглиозных клеток в попытке выявить механизмы, с помощью которых ацетилхолин, выделяемый преганглионарными нейронами спинного мозга, модулирует возбудимость ганглиозных клеток путем активации мускариновых рецепторов. Они обнаружили, что амплитуда медленной деполяризации, возникающей в результате активации М-холинорецепторов, очень сильно зависит от МП клетки, становясь больше при более деполяризованном мембранном потенциале. Браун и Адамс [20] продемонстрировали, что эта выраженная зависимость медленного холинергического возбуждения от напряжения была обусловлена снижением ацетилхолином силь-

но зависящего от напряжения тока K^+ , который они назвали «М-ток», вследствие его блокады при активации мускариновых рецепторов (рис. 32). М-ток представляет собой ток K^+ который при деполяризации клетки активируется в течение десятков миллисекунд. Например, если мы фиксируем потенциал клетки и перейдем от напряжения -65 до -45 мВ, М-ток медленно включится (рис. 32, А). Стимуляция преганглионарного нерва для высвобождения ацетилхолина приводит к заметному подавлению этого медленно активирующегося K^+ -тока. Активация М-тока деполяризацией ведет к снижению возбудимости клетки таким образом, что деполяризующий импульс тока может генерировать только одиночный ПД (рис. 32, Б, до и после стимуляции нерва). Однако если М-ток уменьшается при высвобождении ацетилхолина, то один и тот же деполяризующий импульс тока будет генерировать серию ПД (рис. 32, Б, во время действия ацетилхолина).

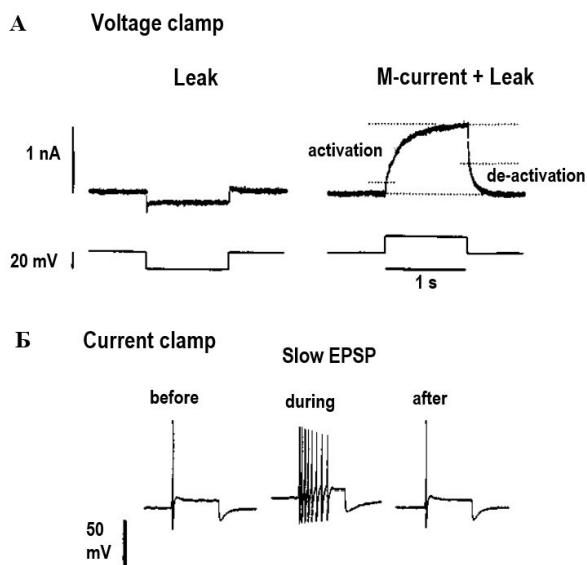


Рис. 32. Свойства тока K^+ , известного как М-ток, который медленно активируется при деполяризации [17]

Примечание. А — в режиме фиксации напряжения гиперполяризация клетки на 20 мВ обнаруживает только проводимость утечки мембраны (Leak). Напротив, деполяризация клетки на 20 мВ приводит к активации медленного выходящего тока (M-current+Leak). Возвращение к уровню покоя ведет к отключению М-тока (de-activation); Б — внутриклеточная инъекция импульса деполяризующего тока в режиме фиксации тока до, во время и после высвобождения ацетилхолина (Slow EPSP, медленный ВПСР). Обратите внимание на заметное увеличение числа потенциалов действия, связанное с блокировкой М-тока ацетилхолином.

Загрузите и запустите **IM.CCS** в **SimCC** для получения примера того, как эти клетки генерируют разряд до применения ацетилхолина (рис. 33, *A*).

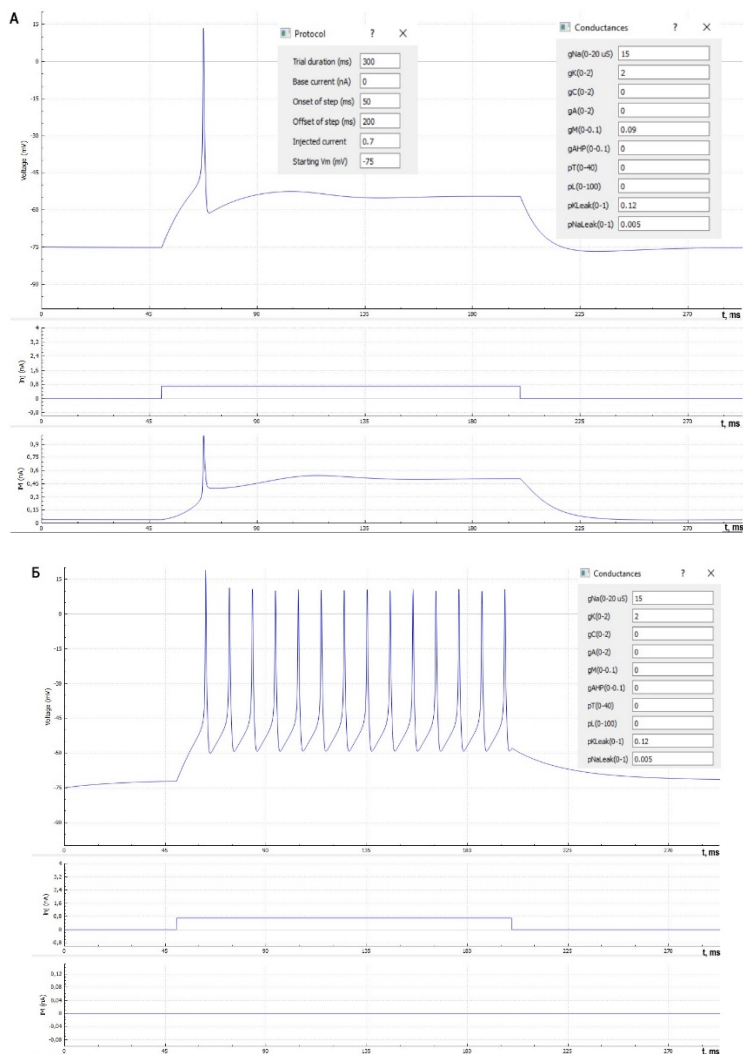
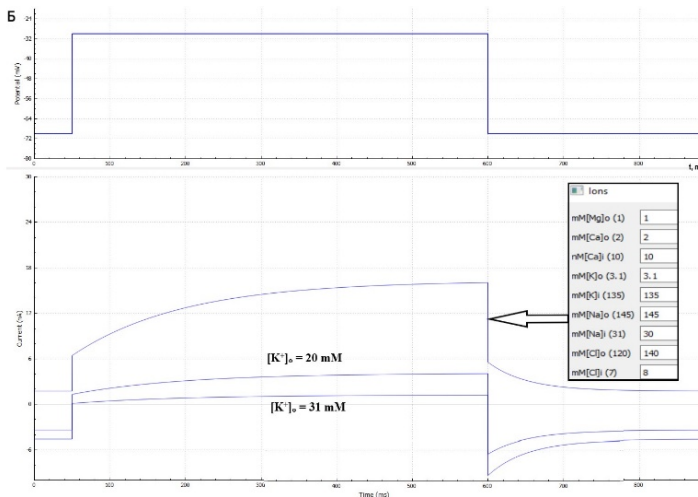
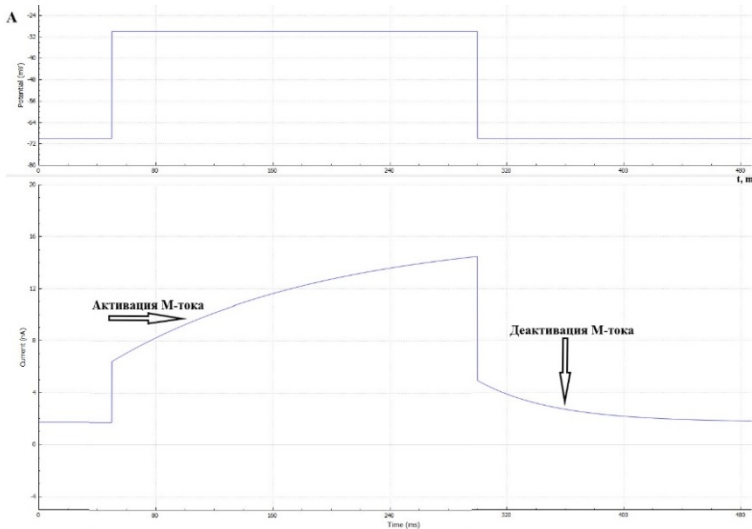


Рис. 33. Деполаризация активирует ток K^+ , известный как М-ток, который предотвращает генерацию серии ПД в модельной клетке (*A*). Блокада М-тока восстанавливает способность клетки к тоническому возбуждению (*B*)

Теперь вы можете имитировать эффект высвобождения ацетилхолина, уменьшив gM до 0 и выбрав **Overlay** в меню **Run**. Обратите внимание, что возбудимость клетки значительно повысилась и теперь нейрон генерирует несколько ПД, тогда как раньше он генерировал только один (рис. 33, *B*). Сначала вы подозреваете, что это может быть связано с Ca^{2+} -активированной

K^+ проводимостью, но вы замечаете (после перезагрузки **IM.CCS**), что снижение $[Ca^{2+}]_o$ до 0.1 мМ не блокирует это свойство. Пытаясь понять, какой ток лежит в основе такого поведения нейрона, переведите клетку в режим фиксации напряжения, выйдя из **SimCC** и запустив **SimVC**. Установите ступеньку деполяризующего напряжения, загрузив и запустив **IM.VCS**. Тогда вы обнаружите выходящий ток, который медленно включается (активируется) под действием деполяризации (рис. 34, А). Изменяя концентрацию внеклеточного K^+ , демонстрируем, что это именно K^+ -ток (рис. 34, Б). Затем имитируем нанесение ацетилхолина на клетку, установив $gM=0$, и отмечаем, что этот K^+ блокируется активацией мускариновых рецепторов, что отражено в названии «М-ток» (рис. 34, В). Применив серию ступеней фиксации напряжения, можно получить вольтамперную характеристику М-тока (рис. 34, Г).



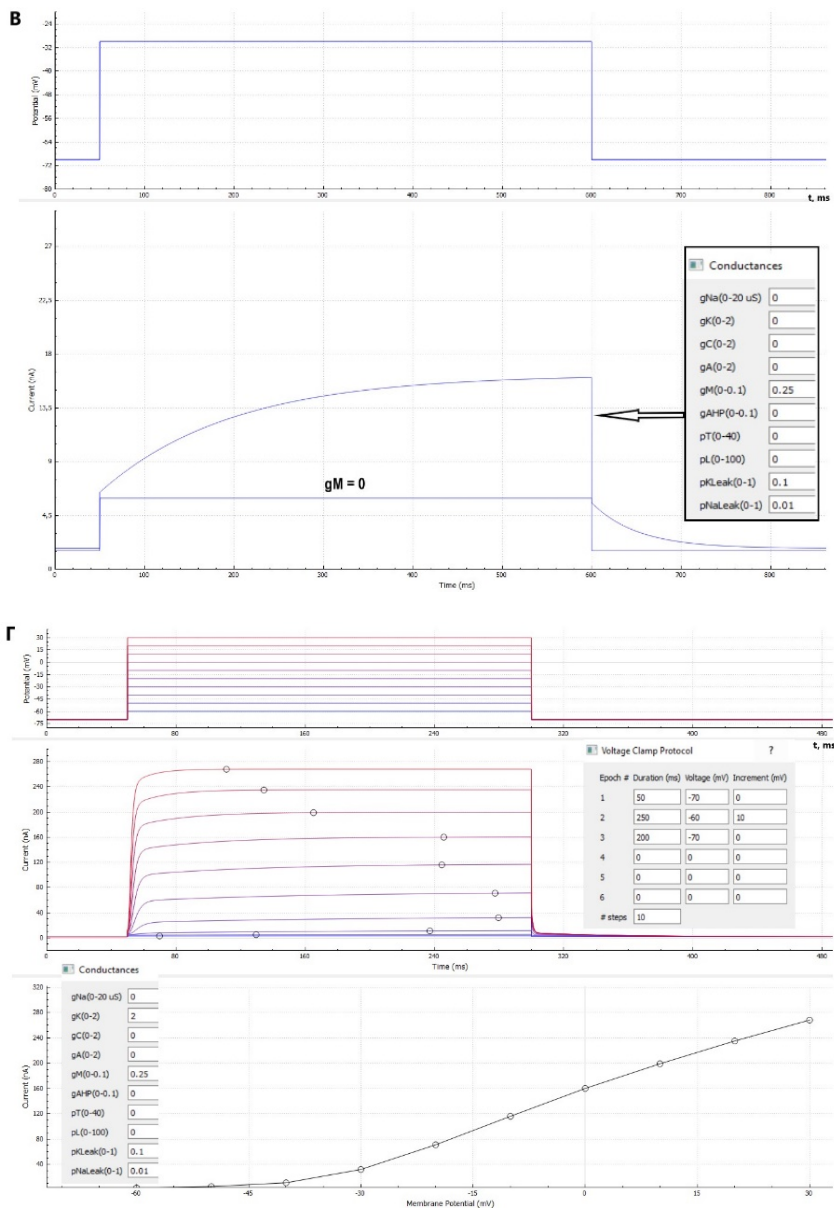


Рис. 34. Анализ М-тока в режиме фиксации напряжения

Примечание. А — включение деполяризации с -70 до -30 мВ приводит к активации медленного выходящего М-тока, а выключение — к медленной деактивации; В — уменьшение градиента концентрации K^+ за счет повышения его во внешнем растворе уменьшает амплитуду М-тока; В — блокирование проводимости мембраны для М-тока полностью устраняет его на записи; Г — вольтамперная характеристика М-тока.

Мы успешно прошли через около 40 лет исследований и теперь должны иметь представление о ряде основных моделей активности, которые нейроны могут генерировать сами по себе. Однако нейроны — это только строительные блоки нейронных цепей, и чтобы построить эти нейронные цепи, необходимо соединить клетки посредством синаптических связей.

Учебные вопросы

Множественные ионные токи в центральных нейронах

1. В чем основное различие между А-током и «запаздывающим выпрямляющим» K^+ -током, который реполяризует ПД (сравните рис. 17 части 1 и рис. 24 части 2)?
2. Как Ca^{2+} -активированные K^+ -токи важны для генерации ПД (рис. 26 и 28 данной части)?
3. Какой ток позволяет клеткам генерировать вспышки потенциалов действия при одном мембранном потенциале и серии потенциалов действия — при другом (рис. 30 этой части)? Почему?
4. Чем М-ток отличается от «задержанного выпрямляющего» K^+ -тока, лежащего в основе реполяризации ПД (сравните рис. 17 части 1 и рис. 34 части 2)?
5. Как М-ток влияет на реакцию клетки на деполяризацию?
6. Блокируя какие ионные токи, нейротрансмиттеры, такие как ацетилхолин, могут повышать возбудимость и реактивность нейронов?

7. СИНАПТИЧЕСКИЕ ПОТЕНЦИАЛЫ

Когда-то считалось, что все синаптические связи в нервной системе могут быть только возбуждающего типа. Однако классические исследования спинальных рефлексов, проведенные Чарльзом Шеррингтоном (см. часть 1, введение), показали, что кроме центральных возбуждающих там также присутствуют и тормозные механизмы. Когда Джон Эклс в 1940—1950-х годах провел внутриклеточную регистрацию активности двигательных нейронов спинного мозга, он обнаружил, что характерной чертой активности локальной цепи являются не только возбуждающие постсинаптические потенциалы (ВПСП, EPSP), но и тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП, IPSP) [12]. Теперь мы знаем, что существуют два основных типа быстрой (миллисекундной) нейротрансмиссии: возбуждающий и тормозной. Возбуждающие синаптические сигналы увеличивают вероятность генерации ПД, в то время как тормозные уменьшает ее.

Наиболее широко распространен в мозге возбуждающий нейротрансмиттер глутамат, который может активировать как постсинаптические АМПА/каинатные, так и NMDA рецепторы. Наиболее распространенным тормозным нейротрансмиттером в нервной системе является ГАМК, которая может активировать как ГАМК_A и ГАМК_B-рецепторы.

Эксперимент 16

Возбуждающие постсинаптические потенциалы

Допустим, вы записываете данные с гиппокампа или же коры головного мозга человека или грызуна и активируете возбуждающий афферентный путь подачей короткого электрического стимула на аксоны этого пути. Вы регистрируете быстрый EPSP, за которым следует двухфазная гиперполяризация из-за ТПСП (рис. 35, правая запись).

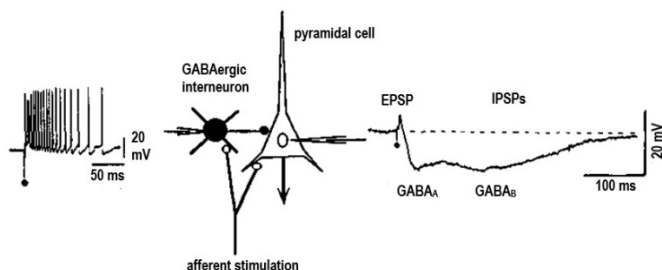
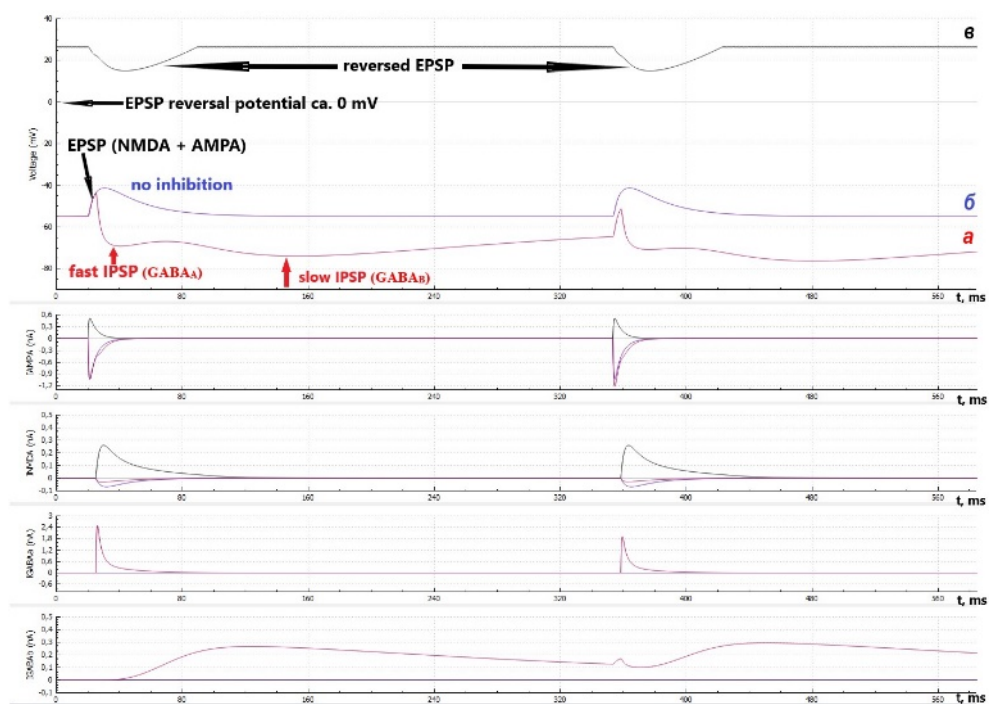


Рис. 35. Активация возбуждающих афферентов к пирамидным клеткам коры человека приводит к возникновению возбуждающих, а затем тормозных постсинаптических потенциалов [20]

Вы подозреваете, что тормозные постсинаптические потенциалы могут быть вызваны разрядом локально расположенных ГАМКергических нейронов. Действительно, когда вы записываете данные с одного из них, вы обнаруживаете, что эти клетки разряжаются повторно в ответ на короткую афферентную стимуляцию (рис. 35, левая запись).

Электрическая стимуляция возбуждающих афферентов (заштрихованные точки) приводит к сильному разряду потенциалов действия в локальных интракортикальных тормозных (ГАМКергических) интернейронах (слева), а также непосредственно деполяризующих пирамидных нейронах (справа, ВПСП). Однако сильный разряд в ГАМКергических нейронах приводит к гиперполяризации (торможению) пирамидальной клетки за счет увеличения проводимости постсинаптической мембраны для Cl^- через ГАМК_A-рецепторы и увеличения проводимости для K^+ через рецепторы ГАМК_B.

Чтобы изучить влияние этой последовательности постсинаптических потенциалов на нейрон, загрузите и запустите **EP_IPSP.CCS** с помощью **SimCC**. Возбуждающий путь вызван выбросом глутамата в нейрон афферентами, в то время как следующие тормозные потенциалы вызваны высвобождением тормозного медиатора местными ГАМКергическими интернейронами. Эти тормозные клетки также возбуждались в результате высвобождения глутамата стимулируемыми афферентами (рис. 36). Теперь вы можете разделить ВПСП от двухфазного ТПСП, применяя антагонисты к ГАМК-рецепторам. В программе моделирования уменьшите *gIPSP* до 0 в *Parameters*, меню *Synaptic Currents*. Теперь выберите *Overlay*, чтобы сравнить EPSP до и после блокирования торможения. Здесь обратите внимание, что EPSP значительно больше после блокады торможения (рис. 36). В реальных нейронных цепях это сильное увеличение амплитуды ВПСП после блокирования торможения может привести к возбуждению, циркулирующему между взаимосвязанными возбуждающими нейронами, и, следовательно, к эпилептическому припадку. Контроль баланса между возбуждением и торможением является одной из основных целей фармакологического лечения эпилепсии. Исследуя фармакологию изолированного EPSP, вы обнаружите, что он опосредован двумя различными типами рецепторов, которые избирательно активируются агонистами AMPA и NMDA. Исследуя зависимость от напряжения и ионную чувствительность ответов, опосредованных AMPA- и NMDA-рецепторами, вы обнаружите, что оба этих рецептора / канала пропускают ионы Na^+ и K^+ и поэтому генерируют ответы, обратимые по полярности при напряжении около 0 мВ (рис. 36). Вы можете исследовать это, изменив базовый ток *Base current (nA)* (нА) на 1.78 и *Starting Vm (mV)* (мВ) на 20 в *Parameters*, меню *Protocol*. Теперь выберите *Overlay* и обратите внимание, что ВПСП изменился на гиперполяризующий благодаря тому, что МП стал положительным по отношению к реверсивному потенциалу реверсии (рис. 36, реверсированный ВПСП).



a

Protocol		Conductances		Synaptic Currents	
Trial duration (ms)	500	gNa(0-20 uS)	0	Onset of IPSP	25
Base current (nA)	0	gK(0-2)	0	gIPSP (0 - 0.1)	0.1
Onset of step (ms)	0	gC(0-2)	0	IPSP frequency	3
Offset of step (ms)	900	gA(0-2)	0	Number of IPSPs	3
Injected current	0	gM(0-0.1)	0	IPSC kinetics	0.5
Starting V _m (mV)	-55	gAHP(0-0.1)	0	GABA _A weight	1
		pT(0-40)	0	GABA _B weight	0.1
		pL(0-100)	0	Onset of EPSP	20
		pKLeak(0-1)	0.1	gEPSP (0 - 0.1)	0.02
		pNaLeak(0-1)	0.0099	EPSP frequency (Hz)	3
				Number of EPSPs	3
				EPSC kinetics factor	1
				AMPA weight	1
				NMDA weight	1

б

Synaptic Currents

Onset of IPSP	25	Onset of EPSP	20
gIPSP (0 - 0.1)	0	gEPSP (0 - 0.1)	0.02
IPSP frequency	3	EPSP frequency (Hz)	3
Number of IPSPs	3	Number of EPSPs	3
IPSC kinetics	0.5	EPSC kinetics factor	1
GABA _A weight	1	AMPA weight	1
GABA _B weight	0.1	NMDA weight	1

Протокол эксперимента и значения проводимостей установлены такие же, что и для опыта «а»

в

Synaptic Currents

Onset of IPSP	25	Onset of EPSP	20
gIPSP (0 - 0.1)	0	gEPSP (0 - 0.1)	0.02
IPSP frequency	3	EPSP frequency (Hz)	3
Number of IPSPs	3	Number of EPSPs	3
IPSC kinetics	0.5	EPSC kinetics factor	1
GABA _A weight	1	AMPA weight	1
GABA _B weight	0.1	NMDA weight	1

Protocol ?

Trial duration (ms)	600
Base current (nA)	1.3
Onset of step (ms)	0
Offset of step (ms)	900
Injected current	0
Starting Vm (mV)	27

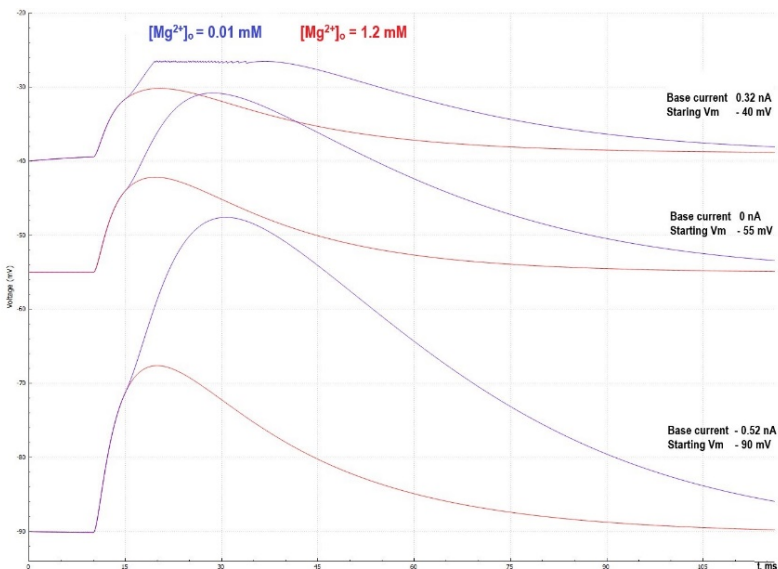
Значения проводимостей сохранены те же, что в экспериментах «а» и «б»

Рис. 36. Возбуждающие и тормозные постсинаптические потенциалы

Примечание. Возбуждающие постсинаптические потенциалы опосредованы AMPA- и NMDA-рецепторами, тогда как тормозные постсинаптические потенциалы опосредованы ГАМК_A- и ГАМК_B-рецепторами в модельной клетке. Блокирование тормозных потенциалов приводит к увеличению амплитуды ВПСП. EPSP меняет полярность при 0 мВ. Под записями синаптических сигналов приведены графики динамики токов, протекающих через ионотропные рецепторы AMPA, NMDA, GABA_A, а также метаботропные GABA_B. Протоколы опытов, значения проводимостей и синаптических токов приведены ниже под графиками.

NMDA-часть ВПСП имеет необычную зависимость от напряжения: она становится больше при деполяризации, даже если вы находитесь ближе к по-

тенциалу реверсии. Чтобы исследовать это, мы изолировали NMDA-компонент, блокируя AMPA-компонент специфическим антагонистом. Для этого загрузите и запустите файл **NMDA.CCS** (рис. 37). Теперь активация афферентов генерирует ВПСП, опосредованный только NMDA-рецепторами. Гиперполярируйте нейрон, изменив базовый ток **Base current (nA)** (нА) с 0 до -0.52 нА, а **Starting Vm (mV)** (мВ) — до -90 мВ, и выберите **Overlay**. Обратите внимание, что при таком гиперполяризованном мембранном потенциале ВПСП, опосредованный NMDA-рецепторами, очень мал (рис. 37). Измените **Base current (nA)** (нА) на 0.525 и **Starting Vm (mV)** (мВ) на -30 , выберите пункт **Overlay** и обратите внимание, что EPSP больше при этом деполяризованном мембранном потенциале несмотря на то, что мы находимся ближе к обратному потенциалу реверсии. Изменяя внеклеточную концентрацию различных ионов, Линда Новак с коллегами показали, что $[Mg^{2+}]_o$ важен для этой необычной зависимости от напряжения ВПСП, опосредованного NMDA-рецепторами [19]. Например, измените **Base current (nA)** на -0.52 и **Starting Vm (mV)** на -90 и выберите **Begin**. Теперь измените $[Mg^{2+}]_o$ с 1.2 до 0.01 мМ и выберите **Overlay**. Обратите внимание, что ВПСП несколько больше после уменьшения $[Mg^{2+}]_o$ в омывающем растворе (рис. 37). Чтобы проверить, верно ли то же самое при деполяризованных МП, измените базовый ток **Base current (nA)** на нулевой ток (равный не более 0.525) и **Starting Vm (mV)** до -30 и выберите **Begin**. Измените $[Mg^{2+}]_o$ обратно на 1.2 и выберите **Overlay**. Обратите внимание, что влияние ионов Mg^{2+} на NMDA-опосредованный ВПСП меньше при деполяризованном значении МП по сравнению с гиперполяризованным (рис. 37).



Protocol	?	Synaptic Currents			
Trial duration (ms)	120	Onset of IPSP	200	Onset of EPSP	10
Base current (nA)	0	gIPSP (0 - 0.1)	0	gEPSP (0 - 0.1)	0.02
Onset of step (ms)	50	IPSP frequency	0	EPSP frequency (Hz)	2
Offset of step (ms)	20	Number of IPSPs	0	Number of EPSPs	2
Injected current	0	IPSC kinetics	0.5	EPSC kinetics factor	1
Starting Vm (mV)	-55	GABAa weight	1	AMPA weight	1
		GABAb weight	0.1	NMDA weight	1

Рис. 37. Необычная зависимость от напряжения компонента, опосредованного NMDA-рецептором, происходит из-за зависимости блока канала от напряжения ионами Mg^{2+}

Примечание. Когда значение $[Mg^{2+}]_o$ снижено, амплитуда ВПСП, опосредованного NMDA-рецептором, при гиперполяризованных МП (-90 мВ) больше, чем при деполяризованных МП (-25 мВ), как и ожидалось, из-за приближения к равновесному потенциалу для токов NMDA (0 мВ). Напротив, с увеличением значения $[Mg^{2+}]_o$ ток NMDA уменьшается (а следовательно, уменьшается и амплитуда ВПСП) при гиперполяризованных МП (например, -55 и -90 мВ), что приводит к необычной зависимости от напряжения. На вставках приведены начальные параметры протокола и значения синаптических токов. В экспериментах изменяли значения **Base current (nA)** и **Starting Vm (mV)** во вкладке **Protocol**, а также значения $[Mg^{2+}]_o$ во вкладке **Ions**.

Чтобы более подробно изучить зависимость NMDA-рецепторов от напряжения, необходимо исследовать их в условиях его фиксации.

Выйдите из программы **SimCC**, запустите **SimVC**, загрузите и запустите **NMDA.VCS**. Здесь мы активировали синапс, опосредованный NMDA-рецепторами, при этом зафиксировав постсинаптический нейрон на различных значениях МП (рис. 38, А, верхняя запись — протокол эксперимента) в присутствии в растворе обычной концентрации Mg^{2+} . Измеряя пиковый ток, протекающий через каналы NMDA при различных значениях МП (записи тока в середине), мы получим график зависимости тока NMDA от напряжения (нижний график). Обратите внимание, что при деполяризации МП от -100 до -30 мВ ток NMDA становится больше, хотя при более деполяризованных уровнях он снова становится меньше и даже меняет полярность при 0 мВ. Если мы уменьшим $[Mg^{2+}]_o$ до 0.001 мМ и проведем эксперимент снова, то обнаружим, что опосредованный NMDA-рецепторами ВПСП больше не зависит от напряжения (рис. 38, Б).

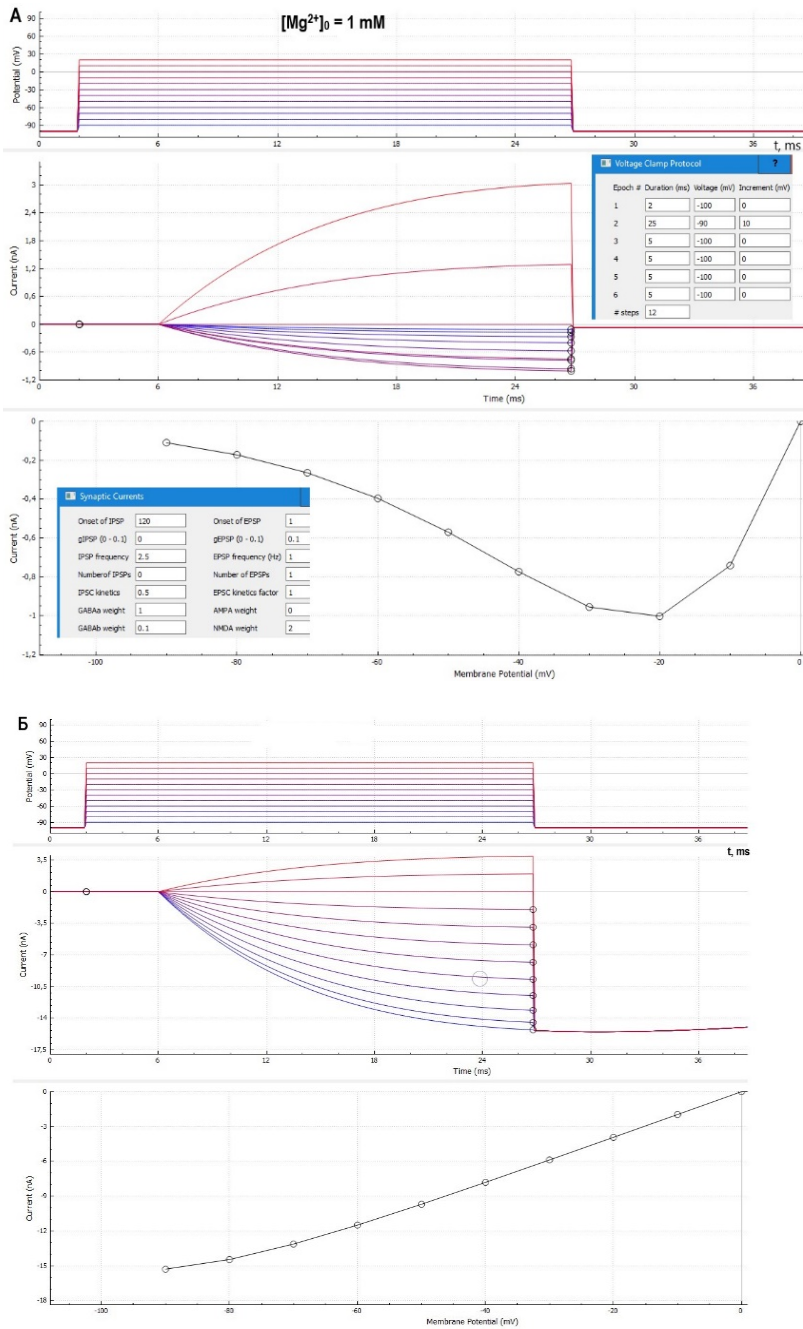


Рис. 38. Анализ зависимости от напряжения токов, опосредованных NMDA-рецептором, в условиях нормальной (А) и пониженной (Б) концентрации Mg^{2+}

Примечание. *A* — активация ВПСП, опосредованного NMDA-рецептором, показывает, что ответы сначала увеличиваются, а затем уменьшаются по мере деполяризации мембраны. Ток NMDA становится больше по мере деполяризации мембраны от -100 до -20 мВ, а затем уменьшается и меняет полярность при 0 мВ. *B* — сильное снижение концентрации Mg^{2+} во внешнем растворе приводит к линейаризации зависимости тока ВПСП, опосредованного NMDA-рецептором. График зависимости пикового тока NMDA от мембранного потенциала показывает, что амплитуда ВПСП теперь определяется только расстоянием до обратного потенциала (0 мВ). Обратите внимание на разницу в шкале тока NMDA между *A* и *B*. Протоколы и значения синаптических токов одинаковы для обоих экспериментов.

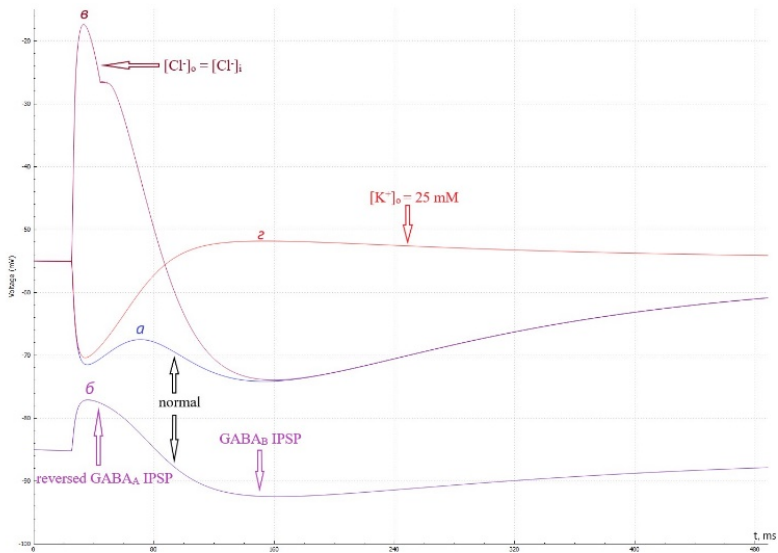
Эти результаты заставляют вас предположить, что NMDA-рецепторы демонстрируют выраженную зависимость от напряжения, потому что при гиперполяризованном мембранном потенциале отрицательный потенциал внутри клетки стимулирует Mg^{2+} к входу в клетку. Как только ионы Mg^{2+} попадают в каналы NMDA, они «застревают» и поэтому блокируют проведение ионов через эти поры. Однако при деполяризованном значении МП притяжение Mg^{2+} для входа в клетку гораздо меньше; поэтому, когда каналы NMDA открыты, только некоторые из них становятся «закупоренными» ионами Mg^{2+} . Можно провести аналогичные эксперименты с опосредованным AMPA-рецепторами ВПСП в изоляции, загрузив **AMPA.CCS** или **AMPA.VCS**. Вы обнаружите, что AMPA-рецепторы не зависят от напряжения и на них не влияет $[Mg^{2+}]_o$.

К сожалению, в более поздних версиях программы **SimVC** не удастся построить в одной системе координат вольтамперные характеристики для разных полярностей токов. Желаящие построить вольтамперную характеристику одним графиком могут выполнить эту задачу в более старой версии **VCWin**.

Эксперимент 17

Тормозные синаптические потенциалы

Блокируя возбуждающие постсинаптические рецепторы фармакологически и непосредственно стимулируя тормозные интернейроны, можно исследовать ТПСП изолированно от ВПСП. В **SimVC** загрузите и запустите **IPSPS.CCS**. Обратите внимание, что снова мы имеем двухфазный, или двухкомпонентный, тормозной потенциал. С помощью фармакологического исследования вы определите, что первая фаза ответа опосредуется через активацию ГАМК_A-рецепторов, а вторая часть — через активацию ГАМК_B-рецепторов (рис. 39). Затем нужно исследовать ионные механизмы генерации этих различных ТПСП путем изменения МП и внеклеточной концентрации ионов.



a

Protocol		Ions		Synaptic Currents	
Trial duration (ms)	500	mM[Mg] _o (1)	1.2	Onset of IPSP	25
Base current (nA)	0	mM[Ca] _o (2)	2	gIPSP (0 - 0.1)	0.1
Onset of step (ms)	50	nM[Ca] _i (10)	10	IPSP frequency	2.5
Offset of step (ms)	550	mM[K] _o (3.1)	3.1	Number of IPSPs	1
Injected current	0	mM[K] _i (135)	135	IPSC kinetics	0.5
Starting Vm (mV)	-55	mM[Na] _o (145)	145	GABA _a weight	1
		mM[Na] _i (31)	31	GABA _b weight	0.1
		mM[Cl] _o (120)	120	Onset of EPSP	20
		mM[Cl] _i (7)	7	gEPSP (0 - 0.1)	0
				EPSP frequency (Hz)	0
				Number of EPSPs	0
				EPSC kinetics factor	1
				AMPA weight	1
				NMDA weight	1

b

Protocol		Ions	
Trial duration (ms)	500	mM[Mg] _o (1)	1.2
Base current (nA)	-0.38	mM[Ca] _o (2)	2
Onset of step (ms)	50	nM[Ca] _i (10)	10
Offset of step (ms)	550	mM[K] _o (3.1)	3.1
Injected current	0	mM[K] _i (135)	135
Starting Vm (mV)	-85	mM[Na] _o (145)	145
		mM[Na] _i (31)	31
		mM[Cl] _o (120)	120
		mM[Cl] _i (7)	7

6

Protocol		Ions	
Trial duration (ms)	500	mM[Mg]o (1)	1.2
Base current (nA)	0	mM[Ca]o (2)	2
Onset of step (ms)	50	nM[Ca]i (10)	10
Offset of step (ms)	550	mM[K]o (3.1)	3.1
Injected current	0	mM[K]i (135)	135
Starting Vm (mV)	-55	mM[Na]o (145)	145
		mM[Na]i (31)	31
		mM[Cl]o (120)	7
		mM[Cl]i (7)	7

2

Protocol		Ions	
Trial duration (ms)	500	mM[Mg]o (1)	1.2
Base current (nA)	-0.5	mM[Ca]o (2)	2
Onset of step (ms)	50	nM[Ca]i (10)	10
Offset of step (ms)	550	mM[K]o (3.1)	25
Injected current	0	mM[K]i (135)	135
Starting Vm (mV)	-55	mM[Na]o (145)	145
		mM[Na]i (31)	31
		mM[Cl]o (120)	120
		mM[Cl]i (7)	7

Рис. 39. Ионная зависимость двух фаз ТПСР, вызванных активацией разных рецепторов: ГАМК_A и ГАМК_B

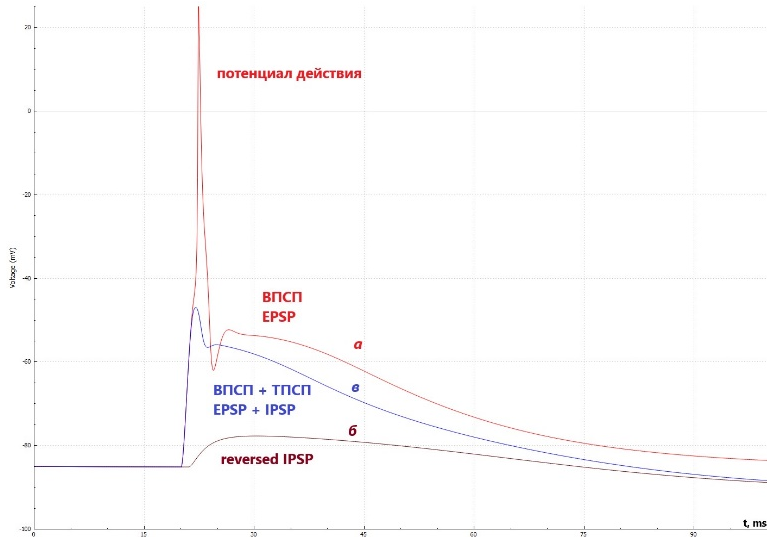
Примечание. Изменение концентраций Cl^- влияет на первый (быстрый) ГАМК_A-опосредованный ТПСР. Амплитуда и знак более позднего, ГАМК_B-опосредованного ТПСР зависят от концентрации K^+ . Потенциал реверсии ГАМК_A-опосредованного ТПСР в обычном растворе составляет -75 мВ, в то время как реверсивный потенциал реверсии ГАМК_B-опосредованного ТПСР составляет -100 мВ.

Значения параметров протокола и концентраций ионов для разных опытов приведены на вставках. Значения синаптических токов были одинаковы для всех записей.

Измените **Base current (nA)** с 0 на -0.38 нА и **Starting Vm (mV)** до -85 мВ, затем выберите **Overlay**. Обратите внимание, что первый ТПСИ инвертируется (деполяризуется), в то время как более поздний — нет (он по-прежнему гиперполяризационный). Это указывает на то, что они опосредуются разными ионами.

Рассмотрим зависимость различных ТПСИ от внеклеточных концентраций ионов. Сначала загрузите и запустите **IPSPS.CCS**. Предположим, что ранний, ГАМК_A ТПСИ опосредован ионами Cl^- , поскольку исследования зависимости от напряжения показывают, что она обращается при равновесном потенциале для Cl^- ($E_{\text{Cl}^-} = -75$ мВ). Поэтому уменьшите $[\text{Cl}^-]_o$ со 120 до 7 мМ и выберите **Overlay**. Обратите внимание, что теперь ГАБА_A ТПСИ деполяризуется, что указывает на изменение равновесного потенциала для Cl^- так, что он стал положительным по отношению к МП и изменил направление потока Cl^- . Если первоначально Cl^- входили внутрь клетки, теперь они движутся изнутри клетки наружу (рис. 39, $[\text{Cl}^-]_i = [\text{Cl}^-]_o$). Аналогично вы изменяете внеклеточную концентрацию K^+ (сначала перезагрузите и повторно запустите **IPSPS.CCS**) с 3.1 до 25 мМ и **Base current (nA)** до -0.5 и обнаруживаете, что теперь поздний ГАМК_B ТПСИ деполяризуется; это указывает на то, что он опосредован увеличением проводимости для K^+ (рис. 39, $[\text{K}^+]_o = 25$ мМ).

Часто путают аспекты синаптической передачи, приравнивая деполяризующие потенциалы к возбуждающей синаптической передаче, а гиперполяризующие синаптические потенциалы — с тормозной синаптической передачей. Однако мы уже видели, что при гиперполяризации клетки ниже E_{Cl^-} гиперполяризующий ТПСИ может стать деполяризующим. Делает ли это бывший ранее тормозным синаптический потенциал возбуждающим? Нет. Причина заключается в том, что, хотя ТПСИ имеет деполяризующий знак, его равновесный потенциал все еще составляет -75 мВ и, следовательно, его значение на 20 мВ ниже порога для генерации ПД (обычно составляет -55 мВ). Чтобы проиллюстрировать это, откройте **IP_EPSP.CCS** и выберите **Begin**. Это изолированный ВПСИ, активированный при -85 мВ, который заставляет клетку генерировать ПД (рис. 38, только ТПСИ). Теперь измените gEPSP с 0.15 на 0, тем самым выключив ВПСИ, и измените gIPSP на 0.1, включив ТПСИ (в данном случае только ГАМК_A). Теперь снова выберите **Begin** и обратите внимание, что ТПСИ деполяризуется (рис. 40, реверсированный IPSP). Теперь измените gEPSP обратно на 0.15 нС, выберите **Overlay** и обратите внимание, что теперь ВПСИ не генерирует ПД (рис. 39, EPSP+IPSP), поскольку ТПСИ «тянет» пик ВПСИ в направлении E_{Cl^-} (-75 мВ) и, следовательно, уводит его от порога генерации ПД. Поэтому постсинаптические потенциалы, которые возникают в результате увеличения проводимости мембраны и имеют потенциал реверсии ниже порога ПД (например, -55 мВ), являются тормозными, даже если они деполяризующие по своему знаку.



а

Protocol		Synaptic Currents			
Trial duration (ms)	100	Onset of IPSP	21	Onset of EPSP	20
Base current (nA)	-0.69	gIPSP (0 - 0.1)	0	gEPSP (0 - 0.1)	0.15
Onset of step (ms)	50	IPSP frequency	2.5	EPSP frequency (Hz)	2
Offset of step (ms)	550	Number of IPSPs	2	Number of EPSPs	1
Injected current	0	IPSC kinetics	0.5	EPSC kinetics factor	1
Starting Vm (mV)	-85	GABAa weight	1	AMPA weight	1
		GABAb weight	0.1	NMDA weight	1

б

Synaptic Currents			
Onset of IPSP	21	Onset of EPSP	20
gIPSP (0 - 0.1)	0.1	gEPSP (0 - 0.1)	0
IPSP frequency	2.5	EPSP frequency (Hz)	2
Number of IPSPs	2	Number of EPSPs	1
IPSC kinetics	0.5	EPSC kinetics factor	1
GABAa weight	1	AMPA weight	1
GABAb weight	0.1	NMDA weight	1

Synaptic Currents			
Onset of IPSP	21	Onset of EPSP	20
gIPSP (0 - 0.1)	0.1	gEPSP (0 - 0.1)	0.15
IPSP frequency	2.5	EPSP frequency (Hz)	2
Number of IPSPs	2	Number of EPSPs	1
IPSC kinetics	0.5	EPSC kinetics factor	1
GABAa weight	1	AMPA weight	1
GABAb weight	0.1	NMDA weight	1

Рис. 40. Реверсированные (деполярирующие) ТПСИ, по своему влиянию являются тормозными

Примечание. Активация одиночного ВПСИ приводит к генерации ПД (а). Активация Cl^- -опосредованного ТПСИ через рецепторы ГАМК_A при МП – 85 мВ приводит к деполяризации мембраны (б). Совместная активация ВПСИ и ТПСИ приводит к ингибированию ВПСИ, так что он больше не активирует ПД (в).

Значения синаптических токов приведены для каждого опыта, значения параметров протокола для всех записей одинаковы.

Учебные вопросы **Синаптические потенциалы**

1. Каков эффект высвобождения глутамата на клетку? Эффект высвобождения ГАМК (см. рис. 36)?
2. Если бы внеклеточная концентрация Cl^- была равна внутриклеточной, активация ГАМК-рецепторов носила бы тормозный или возбуждающий характер? Почему? (Это можно проверить, запустив **IPSPS.CCS** в программе **SimCC**, сделав $[\text{Cl}^-]_o = [\text{Cl}^-]_i$, включив Na^+ - и замедленный выпрямляющий K^+ -токи до 10 и 2 мкс соответственно.)
3. Какие три основных фактора контролируют амплитуду ВПСИ, опосредованного рецепторами NMDA?
4. Почему ВПСИ, опосредованные NMDA- и AMPA-рецепторами, меняют полярность при 0 мВ?

Резюме **Построение нейронной сети**

Сложное разнообразие ионных токов, из которых мы рассмотрели лишь некоторые, позволяет нейронным сетям генерировать разряды ПД уникальных паттернов, формируя особую роль нейронов в обработке информации.

Соединение этих нейронов вместе с тормозными, возбуждающими и модулирующими синаптическими контактами позволяет генерировать еще более богатое разнообразие паттернов активности, которые могут быть полезны для скоординированного выполнения двигательной задачи, анализа визуальной сцены или фильтрации сенсорной информации во время сна. Данная вычислительная модель облегчает понимание физиологии нейронов, так что позволяет объяснить механизмы, с помощью которых нервная система выполняет свои разнообразные функции.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Монографии и учебники

1. *Куффлер С., Николс Дж.* От нейрона к мозгу. М. : Мир, 1979.
2. *Николлс Дж. Г., Мартин А. Р., Валлас Б. Дж., Фукс П. А.* От нейрона к мозгу / пер. с англ. 6-е изд. М. : URSS, 2022.
3. *Ходоров Б. И.* Проблема возбудимости. Л. : Медицина, 1969.
4. *Ходоров Б. И.* Общая физиология возбудимых мембран. Руководство по физиологии. М. : Наука, 1975.
5. *Шеперд Г.* Нейробиология : учебник : в 2 т. М. : Мир, 1987.
6. *Huguenard J., McCormick D. A.* Electrophysiology of The Neuron. An Interactive Tutorial. N. Y. ; Oxford : Oxford University Press, 1994.
7. *Luo Liqun.* Principles of Neurobiology. Garland Science, 2020.

Статьи в периодических научных изданиях

8. *Belluzzi O., Sacchi O.* A five-conductance model of the action potential in the rat sympathetic neurone // *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 1991. №55 (1). P. 1—30. doi: 10.1016/0079-6107(91)90009-h.
9. *Burke R. E.* John Eccles' pioneering role in understanding central synaptic transmission // *Prog. Neurobiol.* 2006. №78 (3-5). P. 173—188. doi: 10.1016/j.pneurobio.2006.02.002.
10. *Connor J. A., Stevens C. F.* Voltage clamp studies of a transient outward membrane current in gastropod neural somata // *J. Physiol.* 1971a. №213 (1). P. 21—30. doi: 10.1113/jphysiol.1971.sp009365.
11. *Connor J. A., Stevens C. F.* Prediction of repetitive firing behaviour from voltage clamp data on an isolated neurone soma // *J. Physiol.* 1971b. №213 (1). P. 31—53. doi: 10.1113/jphysiol.1971.sp009366.
12. *Eccles J. C.* The Physiology of Nerve Cells. Baltimore, 1957.
13. *Hirsch J. C., Fourment A., Marc M. E.* Sleep-related variations of membrane potential in the lateral geniculate body relay neurons of the cat // *Brain. Res.* 1983. №259 (2). P. 308—312. doi: 10.1016/0006-8993(83)91264-7.
14. *Jahnsen H., Llinás R.* Electrophysiological properties of guinea-pig thalamic neurones: an *in vitro* study // *J. Physiol.* 1984a. №349. P. 205—126. doi: 10.1113/jphysiol.1984.sp015153.
15. *Jahnsen H., Llinás R.* Ionic basis for the electro-responsiveness and oscillatory properties of guinea-pig thalamic neurones *in vitro* // *J. Physiol.* 1984b. №349. P. 227—247. doi: 10.1113/jphysiol.1984.sp015154.
16. *Jasper H., Rici G. E., Doane B.* Patterns of cortical neuron discharge during conditioned responses in monkeys // *Neurological Basis of Behavior* / ed. by G. E. W. Wolstenhline, C. M. O'Connor. Boston, 1958. P. 277—294.

17. *Jones S.W., Adams P.R.* The M-current and other potassium currents of vertebrate neurons // *Neuromodulation. The Biochemical Control of Neuronal Excitability* / ed. by L.K. Kaczmarek, I.B. Levitan. N.Y., 1987. P. 159—186.

18. *McCormick D.A., Williamson A.* Modulation of neuronal firing mode in cat and guinea pig LGNd by histamine: possible cellular mechanisms of histaminergic control of arousal // *J. Neurosci.* 1991. № 11 (10). P. 3188—3199. doi: 10.1523/JNEUROSCI.11-10-03188.1991.

19. *Nowak L., Bregestovski P., Ascher P. et al.* Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurons // *Nature.* 1984. № 307 (5950). P. 462—465. doi: 10.1038/307462a0.

20. *Shepherd G.* *Neurobiology.* 3rd ed. N. Y., 1994.

21. *Steriade M., Deschenes M.* The thalamus as a neuronal oscillator // *Brain Res. Rev.* 1984. № 8. P. 1—63. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(84\)90017-1](https://doi.org/10.1016/0165-0173(84)90017-1).

Жуков Валерий Валентинович
Судоплатов Константин Анатольевич
Самойлина Валентина Николаевна

ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕЙРОНОВ,
МОДЕЛИРУЕМЫЕ НА ОСНОВЕ УРАВНЕНИЙ
ХОДЖКИНА — ХАКСЛИ

Методическое пособие

Часть 2
Нейрофизиологические свойства
и синаптические потенциалы нейронов

Учебное электронное издание

Редактор *Д. А. Малеваная*
Компьютерная верстка *Г. И. Винокуровой*

Дата выхода в свет 01.10.2024 г.
Формат 70×100¹/₁₆. Усл. печ. л. 3,3