

ФИЗИОЛОГИЯ

О. Г. Баклаваджян

Сравнительный электрофизиологический анализ холинэргической организации корковых синапсов

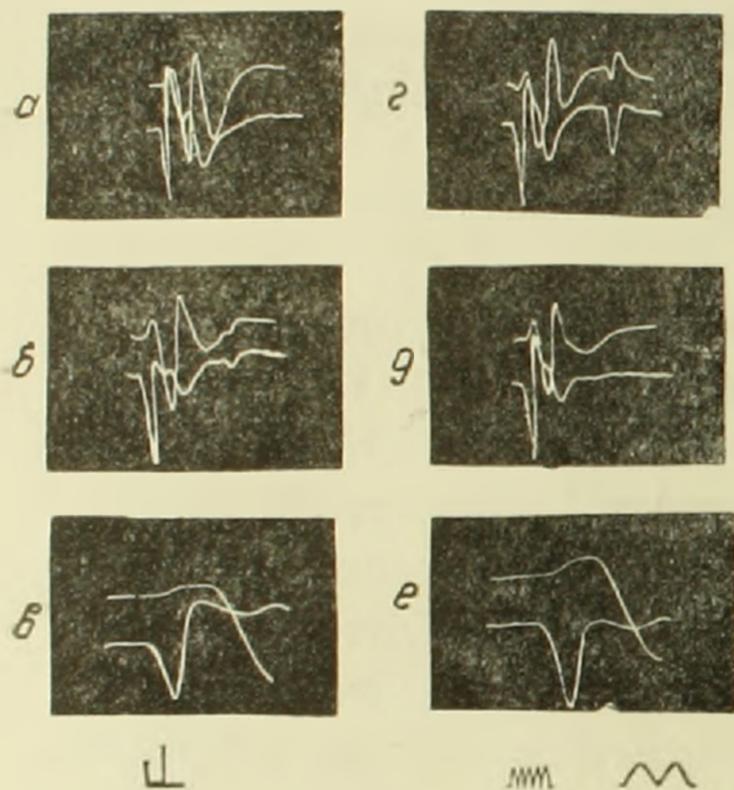
(Представлено чл.-корр. АН Армянской ССР А. М. Алексаняном 12/VI 1962)

О наличии холинэргических синапсов на уровне коры свидетельствуют как электрофизиологические исследования (1-5), так и исследования условнорефлекторной деятельности под воздействием различных холинопозитивных и холинонегативных фармакологических веществ (6, 8). С целью выяснения участия холинэргических структур в организации дендритных синапсов в настоящей работе проведено сравнительное изучение эффекта местной аппликации некоторых холинолитических препаратов на первичные ответы коры при раздражении периферических нервов. При изучении фармакологических свойств корковых синапсов мы обратили особое внимание на специфику действия Н- и М-холинолитиков (по классификации С. В. Аничкова (9)). В литературе мы встретили мало работ, посвященных изучению холинэргической структуры корковых синапсов при местной аппликации холиномиметических и холинолитических веществ в сочетании с регистрацией вызванных потенциалов (10). Было установлено, что атропин в определенных концентрациях вызывает выраженное увеличение амплитуды отрицательного компонента вызванного потенциала. Полученный эффект авторы связывают с более высокой чувствительностью к атропину ингибирующих синапсов коры мозга.

Для более детального изучения нейрохимии ингибирующих и возбуждающих синапсов мы решили сопоставить действие типичного М-холинолитика, атропина, с действием Н-холинолитических веществ, ганглерон (хлоргидрат α , β -диметил- γ -диэтиламинопропилового эфира *l*-изобутоксид бензойной кислоты) и арпенал (хлоргидрат диэтиламинопропиламида дифенилуксусной кислоты). В своих исследованиях мы исходили из положения, что поверхностно-отрицательная волна вызванного потенциала представляет постсинаптический потенциал (11, 12) и действие применяемых нами холинолитических препаратов на него рассматривалось нами как действие на возбуждающие, деполяризующие и тормозящие, гиперполяризующие аксодендритические синапсы.

С целью контроля в ряде опытов действие холинолитиков сравнивалось с действием гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и КСI.

Методика. Опыты ставились на кошках под хлоралозным наркозом (50—70 мг/кг внутривентрально). Потенциалы отводились с поверхности коры монополярно при помощи шариковых серебряных электродов, установленных на микроманипуляторе стереотаксического прибора. При раздражении центрального конца перерезанного седалищного нерва первичный ответ вызванного потенциала отводился из второй соматосензорной зоны коры. Вторичные ответы отводились из *g. lat. ant.* Действие препаратов изучалось путем их местной аппликации при помощи фильтровальной бумаги. Было испытано действие



Фиг. 1. Эффект местной аппликации ганглерона в области второй соматосензорной зоны коры. Опыт от 15/1 1962 г. *a*—фон; *b*—эффект ганглерона, 2-я минута после снятия фильтровальной бумаги; *г*, *д*,—10-я и 15 минута, *в*, *е*—быстрая развертка луча, лат. период до (*в*) и после (*е*) аппликации ганглерона (11 мсек.). В этом и во всех последующих рисунках первая вертикальная линия означает калибровочный масштаб для нижнего луча, вторая вертикальная линия— для верхнего луча. Калибровка 100 мкв. Отметка времени для медленной и быстрой развертки—10 мсек. Верхний луч регистрирует вторичный ответ в *g. lat. ant.*, нижний луч—первичный ответ во второй проекционной зоне коры. Отклонение луча вниз—положительное колебание.

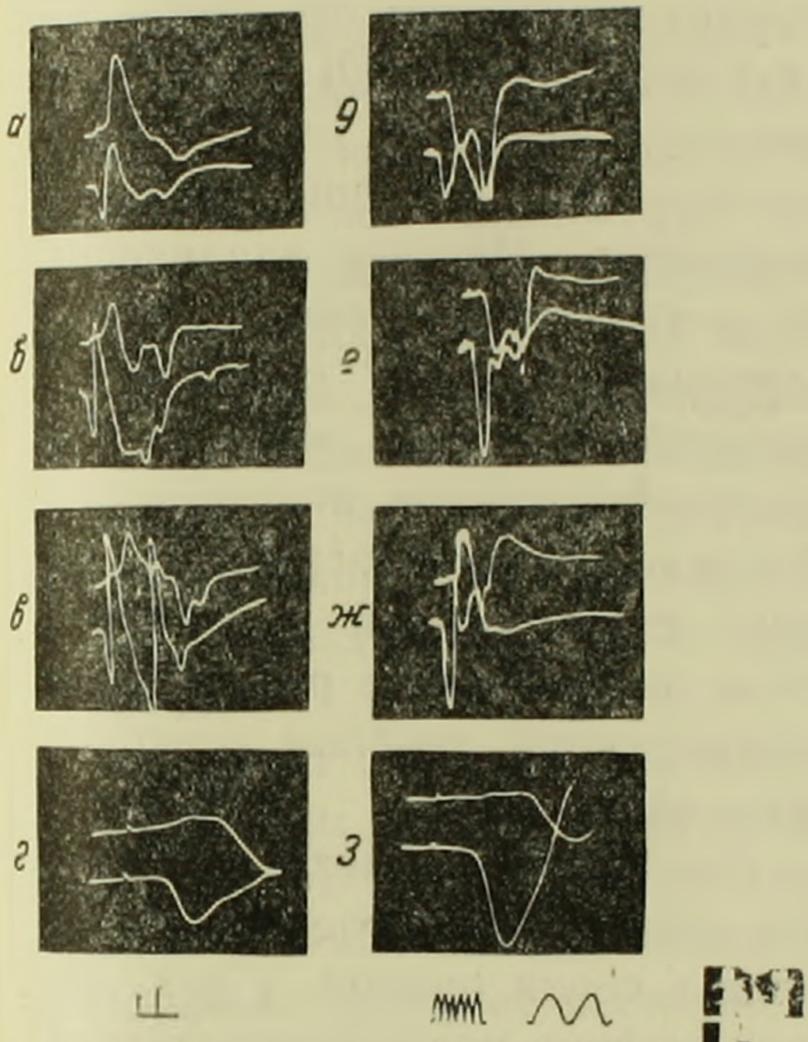
отрицательного потенциала. Иногда наблюдалось подавление отрицательной фазы без усиления положительной. Отмечен случай, когда ганглерон подавлял в одинаковой степени и положительное и отрицательное колебания, уменьшая пропорционально величину первично-

1,5% растворов ганглерона, арпена-ла, атропина, ГАМК и КСI. Н-холинолитические вещества, ганглерон и арпенал синтезированы в Институте тонкой органической химии АН Армянской ССР под руководством академика АН Армянской ССР А. Л. Мнджояна, который любезно предоставил нам эти препараты для испытания.

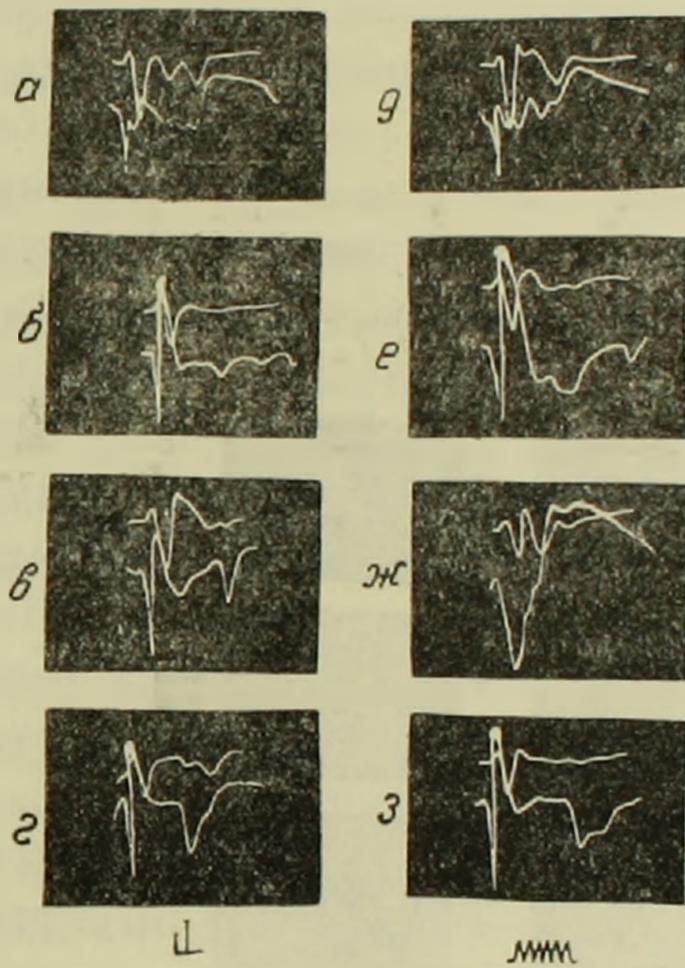
Результаты. При раздражении седалищного нерва во второй соматосензорной зоне коры регистрируется первичный ответ в виде двухфазного положительно-отрицательного колебания потенциалов. Местная аппликация Н-холинолитического препарата, ганглерона, обычно срезывает отрицательную волну вызванного потенциала и углубляет положительную. Эффект обратим и восстановление нормального двухфазного потенциала происходит в течение 10—15 мин. Промывание физиологическим раствором способствует более быстрому восстановлению исходного фона (фиг. 1). В отдельных случаях ганглерон не вызывал эффекта или вызывал незначительное уменьшение

го ответа. Однако все эти вариации в действии ганглера не являются типичными. В подавляющем большинстве случаев, как было отмечено выше, угнетение отрицательной фазы, вплоть до полного ее подавления, сопровождается углублением и увеличением положительной фазы. Ганглерон оказывает действие только на амплитуду и конфигурацию потенциала, не влияя на его латентный период, который составляет в среднем 8—12 мсек как до, так и после аппликации препарата (фиг. 1—в, е).

Изменения первичного ответа в большинстве случаев не отражаются на вторичных ответах в g. lat. ant. (фиг. 1—4).



Фиг. 2. Эффект местной аппликации атропина в зоне первичного ответа а, б, в, г, з—опыт от 29/XII-1961 г. а—фон; б, в, г, з—2-ая и 20-ая мин. после снятия фильтровальной бумаги; г, з—лат. период до и после атропина 12 мсек.; д, е, ж—опыт от 27/XII-1961 г.; д—фон; е, ж—2 и 20-я мин. после снятия атропина. Масштаб усиления—100 мкв. Отметка времени—10 мсек.



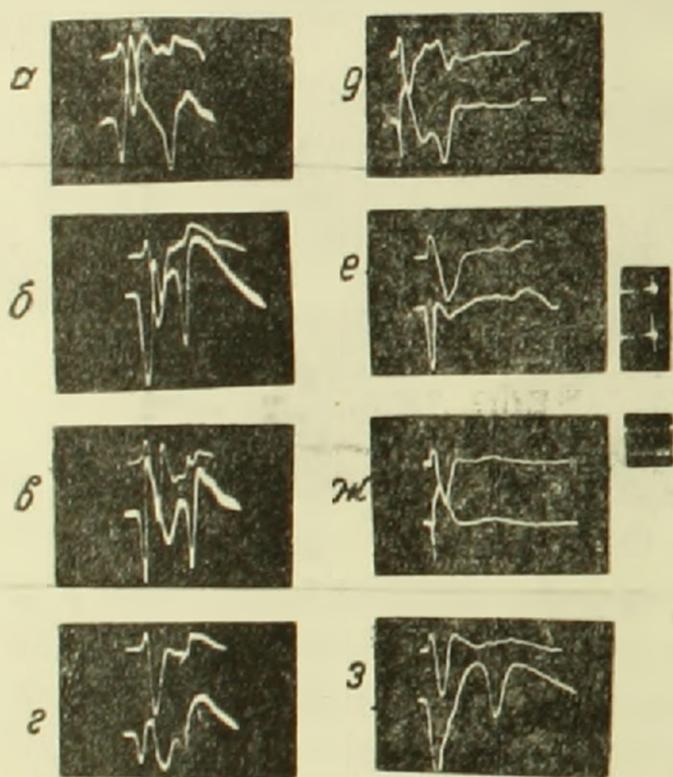
Фиг. 3. Эффект местной аппликации ганглера и ГАМК после предварительной атропинизации коры. Опыт от 15/I-1962 г. а—фон; б—атропиновый эффект; в—эффект ганглера; г—восстановление атропинового потенциала; д—фон; е—атропиновый потенциал, ж, —эффект ГАМК з—восстановление атропинового потенциала. Обратите внимание на различие в действии ганглера (в) и ГАМК (ж). Масштаб усиления 100 мкв. Отметка времени—10 мсек.

Аналогичное действие на первичные ответы оказывает арпенал. Однако оно более слабое и менее постоянное—иногда при наличии эффекта от ганглера арпенал эффекта не дает.

Действие М-холинолитического вещества, атропина, диаметрально противоположно действию Н-холинолитических препаратов. Под влиянием атропина происходит постепенное увеличение отрицательности потенциала. 3-4-кратное усиление отрицательности сопровождается

ся обычно некоторым увеличением положительной фазы (1—1.5 раза) (фиг. 2в). Иногда увеличение отрицательной фазы наблюдается сразу после снятия фильтровальной бумаги или даже при отведении через фильтровальную бумагу. Но в некоторых опытах атропин оказывает двухфазное действие, причем первая фаза его действия напоминает эффект ганглера—срезывается отрицательная фаза потенциала и углубляется положительная (фиг. 2е). Спустя 10—20 мин. появляется и усиливается по сравнению с фоном отрицательная фаза. Положительная фаза при этом остается несколько увеличенной или уменьшается до исходной величины (фиг. 2ж).

Интересно, что под влиянием атропина появляется отрицательное колебание и в том случае, когда в норме его не было (фиг. 2д). Изменение амплитуды и конфигурации потенциалов не отражается на латентный период. (фиг. 2г, 2з). Вторичные ответы в *gyr. lat. ant.* также не подвергаются обычно заметным изменениям. Местная аппликация атропина в концентрации 1.5% вызывает появление спонтанных стрихниноподобных потенциалов в коре в интервалах между раздражениями. Сам «атропиновый» вызванный потенциал со своим выраженным



Фиг. 4. Сравнительная характеристика эффекта ганглера, ГАМК и КСl, а, б, в г—опыт от 6/III-1962 г. а—фон; б—эффект ганглера, в—восстановление фона; г—эффект КСl, д, е, ж, з—опыт от 13/1-1962 г. д—фон; е—эффект ганглера; ж—восстановление. з—эффект ГАМК. Масштаб усиления—100 мкв. Отметка времени—10 мсек.

обычно отличается от эффекта ГАМК тем, что ганглерон в большинстве случаев срезывая или уменьшая поверхностную отрицательность не удлиняет, а только углубляет начальное положительное колебание (фиг. 4е). Появление поздней отрицательности от ганглера наблюдалось редко, в то время как она является типичным эффектом ГАМК.

Представляет интерес серия опытов, в которых действие ГАМК

отрицательным пиком, иногда выходящим за экран осциллографа, напоминает стрихниновый потенциал. Иногда на одинарное раздражение регистрируются двойные корковые ответы (фиг. 2в).

Для выяснения механизма действия ганглера, арпенала и атропина в серии опытов у тех же кошек эффект местной аппликации ганглера сравнивался с действием ГАМК. Как известно, ГАМК при местной аппликации вызывает углубление и расширение положительного потенциала и блокирует отрицательный компонент первичного ответа. Вслед за длительным положительным колебанием появляется медленная отрицательность, которая в норме не регистрируется (фиг. 3—4). Эффект ганглера

и ганглерона на вызванные потенциалы испытывалось как до, так и после атропина. Было установлено, что на фоне „атропинового“ потенциала с выраженной отрицательной фазой, ганглерон подавляет или полностью блокирует отрицательную фазу, не меняя или углубляя несколько положительную (фиг. 3в). Заслуживает внимания то, что после прохождения ганглеронового эффекта восстанавливается вновь атропиновый потенциал с громадной отрицательной фазой (фиг. 3г). Это указывает на то, что при действии ганглерона атропиновый эффект остается и суммируется с эффектом ганглерона.

Сходное получается при применении ГАМК после атропина. ГАМК срезывает отрицательный потенциал и углубляет поверхностно-положительное колебание первичного ответа (фиг. 3ж). И здесь при промывании коры физиологическим раствором восстанавливается атропиновый потенциал (фиг. 3з). Применение ганглерона и ГАМК на фоне атропинового потенциала дало возможность резко выявить различие в их действии на вызванный потенциал.

В серии контрольных опытов со сравнительной целью было изучено действие местной аппликации 1,5% раствора КСl. Будучи общим блокатором, КСl обычно подавляет полностью отрицательную фазу и угнетает значительно положительную (фиг. 4г). Следовательно, действие КСl отличается как от действия ГАМК, так и от действия ганглерона.

Эффект ганглерона и арпенала можно объяснить в основном за счет блокады аксодендритических синапсов возбуждающего, деполяризирующего типа обуславливающих электрогенез отрицательного компонента вызванного потенциала. Угнетение отрицательной фазы потенциала выявляет частично положительный потенциал ингибирующих, гиперполяризирующих аксодендритических синапсов, которые, вероятно, также блокируются ганглероном и арпеналом, но в меньшей степени. Более выраженное действие ганглерона и арпенала на отрицательный потенциал указывает, вероятно, на большую чувствительность Н-холинэргических структур или на их преобладание в возбуждающих аксодендритических синапсах по сравнению с аксодендритическими синапсами ингибирующего типа. Что Н-холинолитические вещества не блокируют в одинаковой степени оба типа аксодендритических синапсов указывают контрольные опыты с КСl, который будучи общим блокатором дендритов подавляет полностью отрицательную фазу и сильно уменьшает положительную за счет полного подавления аксодендритических тормозящих постсинаптических потенциалов (ТПСП). Оставшееся в этом случае небольшое положительное колебание отражает в чистом виде глубинную отрицательность. Контрольные опыты с ГАМК, проведенные нами с целью сравнительного анализа, также указывают на неполную блокаду ингибирующих аксодендритических синапсов со стороны ганглерона и арпенала. Поскольку ГАМК блокирует избирательно только возбуждающие аксодендритические синапсы, поверхностно-положительное колебание вызванно-

го потенциала углубляется и расширяется, так как выявляется в чистом виде вся активность гиперполяризующих аксодендритических синапсов, которая вместе с активностью глубоких структур дает алгебраическую сумму поверхностно-положительного колебания. При действии ганглерона и арпенала в этом поверхностно-положительном колебании очень слабо представлен компонент аксодендритического ТПСР, поэтому оно менее глубокое и менее растянутое, чем при действии ГАМК.

Большое увеличение отрицательной фазы вызванного потенциала под действием атропина можно объяснить за счет избирательной блокады аксодендритических ТПСР. Видимо, атропин, не действуя на возбуждающие синапсы, частично блокирует тормозные. Блокада тормозных синапсов не только приводит к выявлению замаскированного возбуждающего постсинаптического потенциала (ВПСР), но вызывает его усиление, возможно и за счет открытия новых афферентных путей синаптирующих на дендритах. Известно, что на апикальных дендритах синаптируют ретикуло-корковые афференты, которые оказывают длительное ингибирующее действие на дендритную активность. Возможно, избирательная блокада ингибирующих синапсов атропином связана с избирательной блокадой именно этих ингибирующих ретикуло-корковых афферентов (как в случае с нембуталом, который усиливает отрицательный дендритный потенциал за счет такого механизма). Повышение активности дендритов, вероятно, приводит к повышению клеточной возбудимости и этим, возможно, объясняется и наблюдаемое одновременно небольшое углубление поверхностно-положительного колебания. В результате избирательной блокады аксодендритических синапсов электрокорковая активность при атропине напоминает активность при стрихнине. И здесь и там имеется громадное увеличение отрицательной фазы вызванного потенциала, и здесь и там в электрокортикограмме регистрируются спонтанно двухфазные и монофазные пики. Двухфазное действие атропина, видимо, связано с концентрацией препарата. Малые дозы атропина избирательно блокируют ингибирующие синапсы и усиливают отрицательный дендритный потенциал, большие дозы угнетают и возбуждающие синапсы, подавляя отрицательный компонент потенциала. Здесь имеется аналогия с действием стрихнина. Как известно, стрихнин в малых концентрациях блокирует ингибирующие синапсы, в результате чего усиливает дендритный потенциал. В больших концентрациях в результате блокады и ВПСР подавляется также и поверхностная отрицательность.

Однако возможен и другой механизм, объясняющий действие ганглерона, арпенала и атропина. Наблюдаемые нами эффекты можно объяснить не за счет избирательной ингибиции возбуждающих (Н-холинэргических) или тормозящих (М-холинэргических) синапсов, а за счет прямого избирательного, активного возбуждения ингибирующих (ган-

глерон и арпенал) и возбуждающих (атропин) синаптических структур этими препаратами. Такое допущение менее вероятно, но оно дает возможность легче объяснить действие ГАМК после атропина. Как было отмечено, ГАМК подавляет отрицательную фазу атропинового потенциала, углубляя положительную. Если допустить, что эффект атропина обусловлен блокадой ингибирующих синапсов, то как же после него ГАМК выявляет их активность, углубляя положительное колебание?

Независимо от возможного механизма действия холинолитических препаратов на вызванные потенциалы, полученные результаты доказывают, во-первых, что в области апикальных дендритов коры мозга имеются холинэргические структуры. Анализ синаптического действия препаратов указывает, кроме того, на дифференцированную Н-и М-холинэргическую организацию возбуждающих (преимущественно Н-холинэргических) и ингибирующих (преимущественно М-холинэргических) синапсов коры.

Институт физиологии им. академика Л. А. Орбели
Академии наук Армянской СС

Հ. Գ. ԲՍԿԼԱՎԱԶՅԱՆ

Ուղեղի կեղևի սինապսների խոլիներգիկ կառուցվածքների համեմատական էլեկտրոֆիզիոլոգիական անալիզը

Կատուների մոտ խորալուղային նարկոզի տակ, տեղական ապրիկացիայի շնորհիվ ուսումնասիրվել է Ն- և Մ- խոլինոլիտիկ պրեպարատների սինապտիկ ազդեցությունը:

Վերլուծության նպատակով մի այլ սերիայի փորձերում այդ պրեպարատների ազդեցությունը կեղևի առաջնային պատասխանների վրա համեմատվել է գամմա-ամինոլուղային թթվի և KCl-ի ազդեցության հետ:

Պարզվել է, որ Ն- խոլինոլիտիկ նյութեր գանգլիերոնը և արֆենալը սովորաբար լրիվ կամ մասնակիորեն բնկնում են առաջնային պատասխանի բացասական ֆազան և որոշ շափով խորացնում պոտենցիալի դրական ֆազան:

Խոլինոլիտիկ նյութ ատրոպինը առաջնային պատասխանի վրա ունենում է հակառակ ազդեցություն: Ատրոպինի ազդեցության հետևանքով տեղի է ունենում պոտենցիալի բացասական ֆազայի ամպլիտուդի բարձրացում 3—4 անգամ:

Խոլինոլիտիկ նյութերի տարրեր ազդեցությունը հրահրված պոտենցիալների վրա հավանաբար արտահայտում է ուղեղի կեղևի խոլիներգիկ կառուցվածքների գրգռող և արգելակող սինապսների տարրերությունը:

ЛИТЕРАТУРА — Գ Բ Ա Վ Ա Ն Ո Ւ Թ Յ Ո Ւ Ն

¹ Ф. Миллер, Дж. Ставраки и Дж. Унтон. J. Neurophysiol. v. III, pp. 131—138, 1940. ² В. Боне и Ф. Бремер. C. R. Soc. Biol., Paris v 125, pp 1271—1275, 1937. ³ А. Марацци и Э. Канг, Amer. J. Physiol. v. 153 p. 732, 1950. ⁴ С. Н. Асратян, О. Г. Бакаладжян, З. А. Ваграмян и Н. А. Гаспарян, Известия АН АрмССР (мед. науки), т. I; № 5, 1961. ⁵ П. П. Денисенко, III конференция по вопросам электрофизиологии нервной системы. Киев, 1960. ⁶ М. Я. Михельсон, Н. В. Саватеев, Е. К. Рожкова и Н. Я. Лукомская, Физиол. роль ацетилхолина и изыскание новых лекарственных

веществ, Л., 1957. ⁷ Т. Г. Арутюнян, Научные труды Ерев. унив., т. 64, вып. 7, 1958.
⁸ Г. Е. Григорян, 1-е Всесоюзное совещание по вопросам физиологии вегет. нерв.
сист. и мозжечка, Ереван, 1961. ⁹ С. В. Аничков и М. А. Гребенкина, Бюлл. exper.
биол. и мед. 22, 3, 9, 28—29, 1947. ¹⁰ П. Чатфилд и Д. Пурпура, EEG & Cl. Neuro-
physiol. v. VI. № 2, 1954. ¹¹ А. Н. Ройтбак, Биоэлектрические явления в коре боль-
ших полушарий, Тбилиси, 1955. ¹² Д. Пурпура и Г. Грундфест, J. Neurophysiol. v.
XIX, pp. 573—595, 1956.

