

**Российская академия естественных наук
Отделение психофизиологии**

**Академия медико-технических наук
Российской Федерации**

Л.В. Бобровников

**МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ
И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ОСНОВЫ
НЕЙРОСИНЕРГИЗМА**

Москва 2005

ББК 28.91
Б 78

Рецензент: Заслуженный деятель науки РФ, академик РАЕН, вице-президент Российской академии медико-технических наук, д.м.н., проф. О.Я.Боксер

Л.В.Бобровников. Молекулярно-биологические и физиологические основы нейросинергизма. – М.: Российская академия естественных наук, 2005. – 242 с.

ISBN 5-89903-039-9

Развитие системного направления нейрофизиологических исследований, разработка ряда других областей современной науки о мозге неразрывно связаны с экспериментальным и теоретическим обоснованием представлений о существовании особой формы организации нейронной активности - "взаимосодействия" нервных клеток на получение полезного для организма приспособительного результата. В представляемой вниманию читателей монографии рассматривается круг вопросов, касающихся новых методологических подходов к анализу этого сложного нейробиологического явления.

According to the functional systems theory one of the characteristic features of the nerve cells organisation is special (operant conditioning) form determination its individual firing activity. The task of the present study was to check some neurophysiology aspects of this phenomenon.

ISBN 5-89903-039-9

© Л.В.Бобровников, 2005

Работа выполнена без поддержки со стороны государственных и частных фондов финансирования фундаментальных научных исследований

“Мозг с его функциями - особенно высшими - представляется мне громадным обществом без классов и правительства. В поисках образца идеальной демократии не обязательно ехать в Афины, Вестминстер или Москву. Свободное общество мы носим в собственной голове” (Грей Уолтер. Живой мозг)

Введение

Прошло уже более сотни лет с того момента, как в распоряжении ученых впервые оказались данные, свидетельствующие о клеточном строении мозга человека и животных. Результаты проведенных исследований со всей определенностью показали, что ткань мозга, подобно ткани любого другого органа, образуется скоплением особых специализированных клеток (“нейронов”), которые являются её основными структурно - функциональными элементами.

Полученные за последние годы данные позволили сделать и другой, не менее важный общий вывод - вывод об исключительной сложности организации нейронных систем. Как выяснилось, число образующих мозг нервных клеток может достигать нескольких миллиардов. Причем, каждая из них, чаще всего, связана с сотнями и даже тысячами других, подобных ей клеточных единиц. В результате, формируется сложнейшее трёхмерное сетевое образование, набор возможных состояний которого (число “степеней свободы”) определяется поистине астрономической величиной. Если попытаться записать это число в обычной десятичной форме, то по имеющимся оценкам для этого потребуется бумажная лента, длиной 9,5 миллионов километров! [Анохин П.К., 1975, С.31].

Как же функционирует эта сложнейшая многоклеточная система? Каким образом неизбежный для любого подобного образования хаос межкомпонентного взаимодействия перерастает в гармонию системной организации?

К настоящему времени в нейрофизиологии достаточ-

но четко обозначились два принципиально разных подхода к рассмотрению этого круга вопросов. Первый из них основывается на предположении о существовании между нейронами мозга особой морфологически детерминированной системы связей. Считается, что в ходе фило- и онтогенетического развития между отдельными группами синаптически связанных нервных клеток происходит образование качественно своеобразных, так называемых, "эффективных" контактов, через которые одни (пресинаптические) нейроны получают возможность своими специфическими электрохимическими воздействиями возбуждать или, наоборот, тормозить активность других (постсинаптических) клеточных единиц. Именно процесс эстафетного распространения по этой сети волны нервного возбуждения и составляет основу организации любых нейронных систем, функционирующих как единое целое.

Концептуальная альтернатива этому подходу была сформулирована в начале 1970-х годов в рамках разработки общей теории функциональных систем [Анохин П.К., 1971]. Согласно основным положениям этой теории, рядная активность нейронов головного мозга в естественных условиях не формируется как реакция на синаптические воздействия, поступающие со стороны рецепторов или от клеток других структур центральной нервной системы. Она является следствием особенностей функционального статуса определенной части нейронов, наличия у них собственных пейсмекерных механизмов, связанных с развертыванием базовых внутриклеточных функций. Соответственно, объединение такого рода фоновых нейронов в единую интеграцию реализуется не как процесс синхронного возникновения множественной клеточной активности, а как итог устранения "избыточного числа степеней свободы" у и без того уже активных нервных клеток.

С этих позиций нейрофизиологическую основу поведения человека и животных составляют процессы формирования совершенно иных по набору своих компонентов центрально-периферических интеграций, нежели те, кото-

рые можно объективизировать по критерию эффективного синаптического межклеточного взаимодействия. Последнее рассматривается лишь как один из многих механизмов вовлечения отдельного компонента в состав соответствующей функциональной системы. Ведущий же принцип построения каждой такой интеграции определяется как принцип взаимосодействия всех ее составляющих на получение полезного для организма приспособительного результата.

Отличительной особенностью такой формы функциональной организации является то, что индивидуальная активность каждого из элементов системы не только способствует ее продвижению по пути достижения общего результата, но и облегчает другим ее компонентам выполнение аналогичной функции. Пользуясь современной терминологией, можно сказать, что в данном случае речь идет о явлении нейросинергизма, когда каждый элемент группы, привнося свой индивидуальный микро вклад в дело получения общего результата, параллельно с этим облегчает реализацию аналогичных привнесений другими членами интеграции.

Принятие этой системы представлений кардинальным образом меняет не только концептуальную, но и методологическую основу исследования нейрональных процессов. В частности, совершенно очевидной становится бессмысленность все еще настойчиво предпринимаемых сегодня попыток анализировать закономерности организации элементарных нейрофизиологических функций живого организма путем "прозванивания" на препаратах ЦНС цепочек "эффективно" взаимосвязанных между собой нервных клеток. Сейчас уже имеются прямые экспериментальные данные, доказывающие, что объективизируемые таким путем совокупности клеточных единиц имеют мало общего с реальными интеграциями центрально-периферических элементов организма, согласованная активность которых обеспечивает достижение соответствующих результатов на организменном уровне.

Однако до самого последнего времени исследование

явления взаимосодействия нервных клеток было сопряжено с весьма серьезными проблемами. Причина - большие трудности, которые неизбежно возникают при попытке воспроизведения в рамках нейрофизиологического эксперимента тех условий, которые необходимы для его объективного анализа. Лишь относительно недавно, благодаря разработке ряда принципиально новых методов появилась реальная возможность проведения всесторонних исследований в данном направлении.

Представляемая вниманию читателей монография как раз и посвящена рассмотрению некоторых из этих новых экспериментальных методов и технических устройств для их реализации.

Основной акцент изложения при этом будет сделан на обосновании соответствующих задач исследования и трактовке получаемых в результате данных именно с позиций общей теории функциональных систем. По моему твердому убеждению, несмотря на многие дискуссионные моменты, равнозначной альтернативы предложенной П.К.Анохиным концепции на сегодняшний день просто не существует.

Вместе с тем, нельзя не учитывать и тот факт, что основные положения этой теории теснейшим образом взаимосвязаны с целым рядом теоретических построений, сделанных в разные годы другими авторами. Особого внимания в этом плане заслуживают: теория оперантного обусловливания Торндайка-Скиннера ("закон эффекта"); концепция функциональной обратной связи (Ч.Белл; Н.А.Бернштейн); представления о внутренней операциональной архитектонике поведенческого акта (К.Прибрам); принцип метаболической межклеточной кооперации (В.Левинштейн); учение о доминанте (А.А.Ухтомский).

То, что общая теория функциональных систем формировалась именно как синтетическая теория, на протяжении многих десятилетий впитывая в себя все наилучшие достижения научной мысли своего времени, ни в коей мере не умаляет ее значение как гениального и до сих пор еще не превзойденного синтеза.

Более того, наличие тесной взаимосвязи основных положений этой теории с множеством других активно разрабатываемых в последние годы научных направлений означает наличие механизма внутреннего роста, проистекающего независимо от желания учеников и последователей П.К.Анохина. И это обстоятельство означает неизбежность преодоления ошибок, которые никогда нельзя исключить в ходе разработки подобного масштабного научного проекта. Учитывая вышесказанное, в соответствующих разделах монографии приводимые там данные будут интерпретироваться не только с позиций теории функциональных систем, но и с учетом тех оригинальных теоретических построений, которые послужили исходным материалом ее разработки.

Пользуясь возможностью, хотелось бы выразить большую признательность коллегам, оказавшим мне помощь на всех этапах создания этой работы, начиная с освоения чрезвычайно трудоемких методов нейрофизиологического и нейрохимического анализа, кончая всесторонним обсуждением результатов проведенных исследований.

РАЗДЕЛ I ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКОЙ ВЗАИМОСВЯЗИ НЕЙРОНОВ МОЗГА

Глава 1 Синаптические механизмы межнейронного взаимодействия

Мозг человека и животных, несомненно, относится к числу самых сложных образований, возникших в ходе эволюции органического мира. Даже простое перечисление выполняемых этим органом функций резко выделяет его в ряду других объектов живой Природы. Именно благодаря работе головного мозга становится возможной реализация различных сенсорных, моторных, секреторных процессов; происходит формирование биологических и социальных мотиваций; возникает комплекс явлений, связанных с психической деятельностью; осуществляются функции запоминания, хранения и извлечения энграмм памяти.

В свете этих представлений не может не вызывать удивления тот факт, что основные структурно - функциональные элементы нервной ткани (нейроны) сами по себе не обладают какими-то особыми качествами, которые кардинальным образом отличали бы их от других клеточных единиц. Способность к генерации коротких биоэлектрических импульсов (потенциалов действия), механизм их избирательного распространения, медиаторный принцип функциональной взаимосвязи, как выяснилось, характерны не только для нейронов, но и многих других типов клеток [Shepherd G., 1983].

Что же в таком случае обеспечивает уникальные свойства головного мозга как целого? Какие особенности его клеточного строения качественным образом отличают этот орган от других биологических объектов?

Сегодня все большее число исследователей приходит к общему выводу, что ответ на поставленные вопросы сле-

дует искать в рамках анализа синаптической организации нервной ткани, характерным признаком которой является наличие разветвленной, тонко дифференцированной системы межклеточных контактов. Считается, что именно избирательность синаптических связей в сочетании с их способностью к модификации в онтогенезе и при обучении являются решающим фактором возникновения уникальных свойств мозга человека и животных. Отсюда понятен тот огромный интерес, который на протяжении всего последнего времени сохраняется к результатам исследований, проводимых в области синаптологии.

Синапс

Первые публикации о способе взаимодействия нервных клеток через особые контакты (“синапсы”) появились в ещё конце XIX века. Открытие этого явления связано с именем известного испанского ученого Рамона-и-Кахала, который используя разработанную ранее [Golgi С.,1891] методику импрегнации серебром, доказал, что для большинства нейронов характерна дендритно-аксонная форма организации, предполагающая наличие специализированных межклеточных контактов между ними [Ramon y Cajal S.,1895]. Сам же термин “синапс” был предложен несколько позже [Sherrington С., 1897].

Многие из сделанных Рамон-и-Кахалом выводов не утратили своей актуальности и сегодня. Однако в целом представления о структуре и функции синаптических связей за последние сто лет претерпели существенные изменения.

В настоящее время под словом “синапс” понимается специализированный функциональный контакт между возбудимыми клетками, служащий для передачи и преобразования биоэлектрических сигналов. Принято считать, что “синапсы – это единственный путь (выделено мной. - Л.В.), с помощью которого нейроны могут сообщаться друг с другом, они обеспечивают все основные проявления активности нервной системы и интегративную деятельность мозга” [БСЭ Т.23. С.409].

Все синапсы имеют идентичную ультра структуру, которая включает в себя: пресинаптическую часть; синаптическую щель, разделяющую две клетки, и постсинаптическую область.

Установлено, что решающая роль в осуществлении синаптического межклеточного взаимодействия в нервной системе человека и животных принадлежит особым веществам - медиаторам, которые выделяются из окончаний пресинаптических нейронов и вызывают появление ответных биоэлектрических реакций на уровне постсинаптических структур. К настоящему времени уже идентифицировано свыше двух десятков органических соединений, относительно которых доказано, что они выполняют функцию нейромедиаторов. Характерной особенностью каждого из них является способность оказывать на нейроны головного мозга возбуждающий или тормозной эффект.

Обнаруженные медиаторы имеют сходную биохимическую родословную. Все они являются либо аминокислотами, как, например, глицин, таурин, глутаминовая кислота, ГАМК, либо синтезируются из аминокислот (гистамин из гистидина; ацетилхолин из серина; норадреналин и дофамин из тирозина; серотонин из триптофана) или, наконец, представляют собой соединения, состоящие из последовательности нескольких аминокислот (пептиды).

Другой характерной особенностью данного класса веществ является то, что они не могут поступать из кровотока непосредственно в мозг, проникая в него через гематоэнцефаллический барьер. Предшественники же медиаторов достаточно легко преодолевают это препятствие.

За последние годы удалось не только выяснить химический состав различных нейромедиаторных молекул и особенности их распределения по структурам мозга. Не менее серьезные успехи были достигнуты и в рамках исследования биохимических механизмов синаптической передачи. Сейчас уже ясно, что этот процесс включает в себя ряд этапов: синтез медиатора, его депонирование в везикулярных пузырьках нервных окончаний, высвобождение в

синаптическую щель, взаимодействие с рецептором пост-синаптической мембраны и последующая инактивация. Каждый из перечисленных этапов подробно изучен.

Проведенные исследования позволили установить, что действие многих лекарственных препаратов основано на их способности влиять на процесс синаптической передачи нервного импульса. Установлены многие вещества, которые способны избирательно усиливать или, наоборот, блокировать механизмы его реализации. Полученные результаты свидетельствуют о том, что истинной причиной многих дисфункций организма (включая психические расстройства), в конечном счете, является именно нарушение работы медиаторных систем мозга.

Последовательные стадии реализации процесса нейромедиаторного взаимодействия

Синтез молекул медиатора является первым этапом синаптической передачи. Происходит он в ходе развертывания либо одной, либо нескольких стадий ферментативного катализа. Синтезированные молекулы хранятся в окончании аксона в небольших по размеру везикулах - синаптических пузырьках.

В момент прихода нервного импульса к синаптосоме (т.е. в окончание аксона) происходит синхронное высвобождение большого числа молекул медиатора в синаптическую щель. Детали механизма такого выделения до сих пор ещё остаются неясными. По мнению одних исследователей, подобный выброс происходит через специальные каналы.

Согласно другой, не менее распространенной точке зрения, синаптические пузырьки непосредственно сливаются с пресинаптической мембраной и выбрасывают свое содержимое в синаптическую щель. Но в рамках любой из этих схем предполагается, что нервный импульс запускает выход медиатора, повышая проницаемость нервного окончания для ионов кальция, которые, попадая внутрь него, активизируют механизм высвобождения.

Выделяемые в синаптическую щель молекулы медиатора взаимодействуют со специфическими рецепторами постсинаптической мембраны, которые представляют собой массивные белковые молекулы, имеющие так называемый активный центр - особую зону, которая по своей трехмерной структуре (конформации) точно соответствует

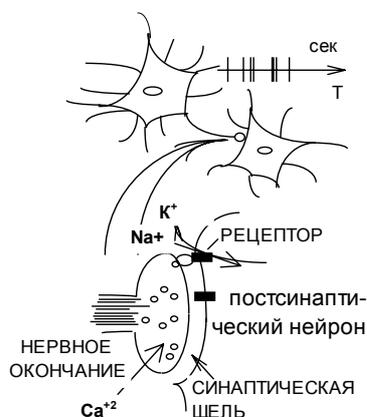


Рис.1. Основные элементы синапса химического типа

строению молекулы нейромедиатора (принцип "ключ-замок"). Взаимодействие медиатора с его рецептором меняет конформацию рецепторного белка, активируя тем самым определенную последовательность внутриклеточных процессов.

Как правило, рецепторы медиаторов, помимо центра связывания, имеют также и канал, пронизывающий мембрану и делающий её избирательно проницаемой для определенных ионов (рис.1). В результате взаимодействия молекул медиатора с рецептором канал открывается, и ионы, находящиеся внутри и снаружи клеточной мембраны, перемещаются по градиенту концентрации, вызывая при этом резкое изменение уровня трансмембранного потенциала.

Создаваемый нейромедиатором биоэлектрический эффект (возбудительный или тормозной), зависит не только от того, какие именно ионы перемещаются, но и от направления их движения. Например, ацетилхолин выступает в роли возбуждающего медиатора в нервно-мышечном синапсе, поскольку он заставляет положительно заряженные ионы натрия входить в клетку и понижать трансмембранный потенциал. Напротив, канал рецептора гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) избирательно проницаем для отрицательно заряженных ионов хлора, которые попа-

дая в постсинаптическую клетку, повышают уровень её трансмембранного потенциала, вызывая эффект временной инактивации.

В основе действия дофамина и норадреналина лежит принципиально иной молекулярно-биологический механизм (рис.2). Установлено, что эти, а также ряд других медиаторов изменяют концентрацию “вторичного посредника” - циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) - в воспринимающих клетках.

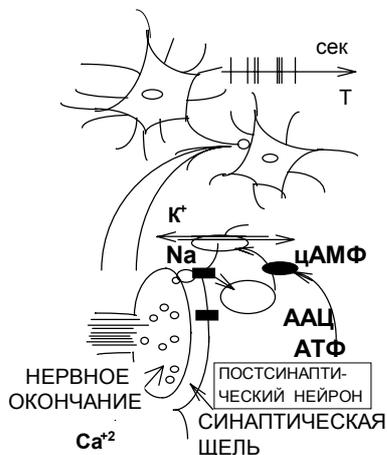


Рис.2. Схема, иллюстрирующая процесс синаптической передачи с участием системы вторичных посредников.

Как выяснилось, белковый рецептор дофамина (и ряда других медиаторов) соединяется в мембране клетки-мишени с ферментом аденилатциклазой (ААЦ), которая катализирует превращение в клетке богатые энергией молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) в цАМФ. Аденилатциклаза в обычном своем состоянии не активна. Лишь когда дофамин связывается с постсинаптическим рецептором, внутри клетки начинается быстрое превращение АТФ в цАМФ. Затем цАМФ действует на биохимический аппарат клетки, вызывая реакцию, характерную для данного медиатора.

тора.

Важно отметить, что в рамках реализации системы вторичного посредника медиатор передает свой сигнал не одной, а многим тысячам молекул цАМФ. В результате создаваемый взаимодействием медиатора с рецептором эффект многократно усиливается внутри клетки. Как только цАМФ передал свое сообщение дальше, он инактивируется в клетке под действием фермента фосфодиэстеразы. По-

этому препараты, ингибирующие этот фермент, повышают уровень цАМФ в постсинаптических клетках и усиливают действие медиатора. Однако в масштабе шкалы времени нейронных событий система вторичного посредника работает относительно медленно.

Все это дает основания говорить о существовании на уровне нейронов головного мозга двух различных типов медиаторных рецепторов: быстродействующих рецепторов, которые осуществляют передачу информации, регулируя проницаемость ионных каналов, и медленно действующих рецепторов, которые вызывают образование в постсинаптическом нейроне вторичного посредника. Некоторые медиаторы, например дофамин, функционируют в мозге на уровне двух разных типов рецепторов: рецептора D1, который связан с системой вторичного посредника цАМФ, и рецептора D2, который с ней не связан.

После того, как молекула медиатора соединится со своим рецептором, она подвергается быстрой инактивации, которая является необходимым условием восстановления процесса синаптической передачи. Одни медиаторы инактивируются гидролитическими ферментами. Ацетилхолин, например, разрушается постоянно находящейся в синаптической щели ацетилхолинэстеразой, которая за секунду способна расщепить до 25000 молекул медиатора.

Для инактивации дофамина и норадреналина используется совершенно иной механизм. Было установлено, что выделившийся из аксонного окончания норадреналин снова быстро всасывается в это же самое окончание. После чего поглощенные таким образом молекулы либо разрушаются ферментами - катехол-О- метилтрансферазой и моноаминоксидозой, которые содержатся в синаптосоме, либо возвращаются обратно в синаптические везикулы. Аналогичный механизм обратного захвата был найден и для дофамина, а также других медиаторов - серотонина и ГАМК.

Пептиды - особый класс нейромедиаторов

Долгое время считалось, что в нервной системе человека и животных в качестве нейромедиаторов выступает одна и та же, относительно небольшая (менее двух десятков) группа органических веществ. Однако после того как в мозге был обнаружен новый класс химических соединений - нейропептиды, круг установленных веществ, обладающих медиаторной активностью, значительно расширился.

Наибольший интерес среди них, несомненно, вызывают энкефалины и эндорфины - нейропептиды, встречающиеся в головном мозге в норме и очень сходные с морфием. Вслед за открытием этих веществ последовало осознание того факта, что некоторые области головного мозга с высокой степенью сродства связывают препараты группы опиоидов. Как показали полученные результаты, рецепторы этого вещества сосредоточены в тех участках головного и спинного мозга млекопитающих, которые имеют отношение к восприятию боли и формированию эмоций.

В дальнейшем из головного мозга были выделены ещё два естественных пептида (так называемые, энкефалины), которые, как выяснилось, также тесно связываются с рецепторами опиоидов. Оба энкефалина представляют собой химические соединения, состоящие из пяти аминокислот. Позднее из гипофиза были выделены другие морфиноподобные пептиды, названные эндорфинами. Проведенные тогда опыты позволили установить, что некоторые воздействия, вызывающие эффект устранения хронических болей, инициируют, помимо всего прочего, и повышение концентрации энкефалинов или эндорфинов в головном и спинном мозге.

Одним из характерных общих свойств нейропептидов является то, что их введение в мозг в очень малых дозах вызывает у экспериментального животного сложное и весьма своеобразное поведение. Например, инъекция всего нескольких наногرامмов ангиотензина II приводит к возникновению сильной мотивации жажды. Другой нейропеп-

тид - люлиберин инициирует после его введения в мозг крысы характерное для самки половое поведение.

Всё это позволяет утверждать, что нейропептиды представляют собой особую группу веществ медиаторной природы. В отличие от классических нейротрансмиттеров, они служат глобальным средством химического кодирования тех форм активности головного мозга, которые связаны с отдельными функциями - поддержанием водно-солевого баланса, половым поведением, ощущениями боли или удовольствия.

Особого внимания в этом плане заслуживает тот факт, что биологически активные пептиды, первоначально обнаруженные в желудочно-кишечном тракте - гастрин, субстанция Р и холецистокинин - содержатся также и в центральной нервной системе. И, наоборот, некоторые пептиды, найденные сначала в головном мозге, позднее были обнаружены в кишечнике (соматостатин, нейротензин, энкефалины). Следовательно, можно считать, что все эти вещества выполняют множество ролей, действуя как локальные гормоны или медиаторы в желудочно-кишечном тракте и как глобальные медиаторы в головном мозге.

Еще одним классом органических соединений, принимающих участие в реализации процесса синаптического межнейронного взаимодействия, являются, так называемые, нейромодуляторы, оказывающие разнообразное возбуждающее и тормозное действие на нейроны в зависимости от их конкретной молекулярной структуры и характера клетки-мишени. В отличие от медиаторов, они вызывают не кратковременные, а продолжительные сдвиги трансмембранного потенциала нейронов. Это позволяет говорить скорее о модулирующей, а не медиаторной функции такого рода веществ. Считается, что они действуют только совместно с медиаторами, эффекты которых они плавно модифицируют.

Влияние различных фармакологических факторов на процесс нейромедиаторного взаимодействия

Изучение нейромедиаторных механизмов синаптической передачи позволило объяснить механизм действия различных психотропных препаратов. Некоторые из них усиливают влияние медиатора, подавляя процесс его инактивации в синапсе. Так, ипрониазид ингибирует фермент моноаминоксидазу, который разрушает дофамин и норадреналин. Соответственно, в результате блокады этого фермента вызываемые ими специфические эффекты усиливаются, чем и объясняется их антидепрессивное действие.

Другую группу антидепрессантов составляют трициклические соединения (например, amitriptilin), которые потенцируют влияние серотонина и норадреналина, блокируя механизм их обратного захвата из синаптической щели. Аналогичным образом действует и нейростимулятор кокаин.

Ещё более выраженные стимулирующие эффекты способен производить амфетамин, механизм действия которого связан с инициацией процесса выделения из окончаний нервных клеток дофамина - медиатора биохимических систем, ответственных за возникновение положительных эмоциональных состояний организма. Как показали лабораторные исследования, регулярное применение амфетамина может привести к развитию симптомов сходных с теми, которые наблюдаются при шизофрении. Отсюда делается вполне обоснованный вывод о том, что в основе этого заболевания лежит именно повышенная активность дофаминергических медиаторных систем. Убедительным аргументом в пользу данного заключения является и тот факт, что разнообразные лекарственные средства, разработанные для лечения шизофрении, обладают одним и тем же общим свойством. Все они тесно связываются именно с дофаминовыми рецепторами головного мозга, не позволяя

естественному медиатору их активировать.

Аналогичным свойством обладают и многие галлюциногены. Например, мескалин по своей структуре похож на норадреналин и дофамин, а известный очень высоким уровнем своей активности наркотик LSD сходен с серотином.

Напротив, производные метилксантина - кофеин и теофиллин - реализуют свое влияние через систему вторичных посредников, ингибируя фермент фосфодиэстеразу, разрушающую цАМФ. В результате, количество молекул цАМФ, образующихся в ответ на подведение одной и той же дозы медиатора резко возрастает.

Благодаря проведенным исследованиям удалось не только установить целый ряд новых веществ, обладающих выраженной медиаторной активностью. Были открыты принципиально новые механизмы их воздействия на клетки головного мозга. Так, для некоторых медиаторов, как выяснилось, возможны несколько типов рецепторов (на одни из них действуют системы вторичных посредников, а на другие - нет), чем объясняются разнонаправленные (возбудительные или тормозные) эффекты одного и того же медиатора в разных частях мозга. Кроме того, оказалось, что выделяющийся из нервного окончания медиатор может воздействовать не только на мембрану постсинаптического нейрона, но и на соседние с ним окончания, усиливая или снижая выход из них медиаторных молекул.

Глава 2

Нейробиологические аспекты формирования синаптической связи

Рассмотренные выше данные отражают лишь малую часть того огромного фактического материала, который был получен за последние годы в области изучения механизмов синаптического межнейронного взаимодействия. Но и сказанного вполне достаточно для того, чтобы обозначить одну из ключевых проблем, которая до сих пор ещё остается нерешенной в рамках современной нейромедиаторной концепции. Речь идет о проблеме **колоссальной избыточности** молекулярно-биологического обеспечения синаптической функции нервных клеток.

Действительно, если исходить из представлений классической нейрофизиологии и рассматривать каждый синапс как специализированный механизм однонаправленной передачи нервного возбуждения, остается неясным, почему для реализации этой простейшей клеточной функции в ходе биогенеза сформировалось столь сложное структурно-функциональное образование. Мало того, что составляющий его белково-филаментный аппарат, буквально, пронизывает все основные структуры нейронов, формируя по сути дела единый микротубулярный “цитоскелет” нервной ткани. В работе этого механизма задействовано избыточно большое число различных факторов химической природы, роль многих из которых до сих пор еще остается неясной. Непонятна и биологическая значимость выделения медиаторных молекул в составе многокомпонентной смеси, основную часть которой образует набор органических соединений, не имеющих прямого отношения к реализации процесса синаптической передачи, но, вместе с тем, обладающих большой метаболической привлекательностью для любой клетки (как, например, АТФ и другие нуклеотиды [Musick J., Hubbard J., 1972; Kuroda Y., McIlwain H., 1974]). Не решенной остается и проблема множественности различных медиаторных систем мозга [Сахаров Д., 1990].

Медиаторный и коннексонный принцип биохимического межклеточного объединения

Попытки получить ответ на эти вопросы заставляют обратить внимание на тот факт, что **избыточные**, с точки зрения механизма передачи нервного возбуждения, элементы синапса являются аналогами ультраструктурных образований **другой** универсальной межклеточной органеллы - **коннексона**, также выполняющего функцию объединения клеток различных специализированных тканей, но уже на основе совершенно иного принципа биохимической интеграции.

Открытие этого механизма приходится на конец 50-х годов прошлого века. Именно тогда E.Furshpan и D.Potter [1957] впервые обнаружили и описали одно чрезвычайно странное явление, наблюдаемое в процессе синаптического взаимодействия гигантских нейронов нервной системы краба. Они заметили, что даже небольшое подпороговое электрическое раздражение пресинаптической нервной клетки вызывает очень быструю (менее 0,2 мс) деполяризацию мембраны постсинаптического нейрона. Если бы исследуемые нервные клетки были соединены синапсом химического (медиаторного) типа, никакое подпороговое изменение трансмембранного потенциала не могло бы распространяться к постсинаптической клетке, поскольку оно не обеспечивает необходимого для этого "порогового" высвобождения молекул нейротрансммиттера. Но даже если, гипотетически, это бы и имело место, все равно на уровне постсинаптической клетки не могли возникать такие коротколатентные биоэлектрические ответы.

Отсюда было сделано заключение, что в данном случае речь идет о синаптическом соединении совершенно иного типа - соединении, в котором ионные токи могут прямо перетекать из пресинаптического нейрона внутрь постсинаптической клетки, минуя экстраклеточную среду. Такие межклеточные контакты получили название электротонических синапсов ("electrotonic synapse").

Однако вскоре выяснилось, что предложенное опре-

деление, которое широко используется в литературе и сегодня, на самом деле не совсем точно отражает основное функциональное предназначение этого ультраструктурного образования. Уже в начале 60-х годов двум сотрудникам Колумбийского Университета Y.Kanno и W.Loewenstein удалось экспериментально доказать, что электротонический синапс, на самом деле, является специализированной структурой, обеспечивающей не столько гальваническую связь между контактирующими клетками, сколько прямой транспорт большого числа различных органических соединений, содержащихся в их цитозоле.

Одним из первых объектов исследований, проведенных в данном направлении, были не нейроны мозга, а клетки, образующие эпителиальную ткань слюнной железы насекомых (личинки дрозофилы и комара). Характерная особенность ультраструктурной организации этого органа заключается в том, что при введении внутрь ядра одной из составляющих его клеток определенных ионов, они начинают свободно перетекать прямо в цитоплазму соседних с ней клеточных единиц. Отсюда можно сделать вывод, что эти клетки гальванически соединены друг с другом, в результате чего ионы щелочных металлов могут свободно проходить из клетки в клетку через низкоомные трансмембранные каналы, не выходя в область внеклеточной жидкости. Но если ионы диссоциированных в водных растворах веществ способны так легко проникать через указанные межклеточные соединения, что можно сказать о других химических субстратах? Возможна ли аналогичная форма транспорта и для органических веществ?

В поисках ответа на поставленный вопрос была проведена серия специальных исследований, которая позволила установить, что если небольшое количество флуоресцеина (мол.вес=376 D) ввести внутрь цитоплазмы одной из таких клеток, то он очень быстро распространится в клетки, расположенные даже в других слоях эпителия слюнной железы. При этом никакого повышения уровня "фоновой" флуоресценции во внеклеточной жидкости не регистриру-

ется.

Полученные результаты не оставляли никаких сомнений в том, что молекулы флуоресцеина действительно способны свободно перемещаться из цитоплазмы одной клетки в цитоплазму других клеточных единиц благодаря прямым диффузионным каналам [Kanno Y., Loewenstein W., 1964, 1966]. Аналогичные формы связи вскоре были установлены и для клеток других типов специализации, что свидетельствовало о широкой распространенности подобных контактов.

На основе обобщения полученных разными авторами данных была разработана модель “щелевого контакта с каналами” [Makowski L. et al., 1984; Caspar D. et al., 1977; Unwin P., 1987; Unger V. et al., 1997], которая в настоящее время является общепринятой (рис.3).

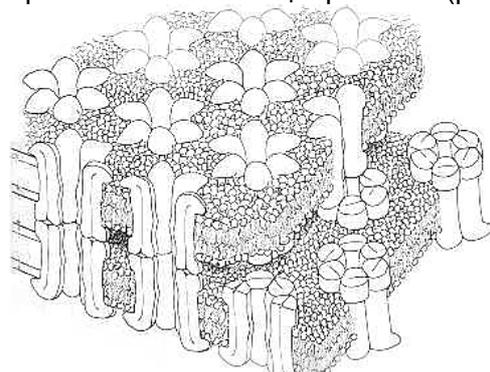


Рис.3. Строение клеточных мембран в области соединения коннексонного типа

В рамках электронно-микроскопических исследований открытие клеточных соединений, содержащих такие каналы, было сделано в 1967 году J.Revel и M.Karnovsky. Полученные ими микрофотографии показали, что узкая щель между смежными клетками (“gap junction”), действительно, дает возможность осуществлять прямой обмен содержимым их цитозолей [Revel J., Karnovsky M., 1967].

Для того чтобы узнать как можно больше о структуре и функциях каналов, соединяющих цитоплазмы соседних клеток, исследовалась флуоресценция проб, содержащих пептиды различных размеров. Было установлено, что ве-

щества с молекулярным весом до 1200 дальтон способны относительно свободно диффундировать между клетками [Kanno Y., Loewenstein W., 1966]. Основываясь на оценке размеров этих молекул, авторы пришли к заключению, что эффективный размер диаметра канала приблизительно 1,0 - 2,0 нм.

Аналогичный вывод был сделан и по фотографиям, полученным с электронного микроскопа. Как показал проведенный анализ, в зоне электротонического синапса молекулы различных органических соединений, действительно, могут свободно проходить из одной клетки в другую, минуя в эстроклеточную среду [Simpson I. et al., 1977; Schwartzmann G. et al., 1981].

По иронии судьбы, открытие этого механизма произошло как раз в тот период, когда нейронная доктрина окончательно вытеснила ретикулярную теорию строения нервной системы (“теорию нейропиля”).

Большинство исследователей сходятся сегодня во мнении и по вопросу о молекулярно - биологических механизмах образования подобных структур. Считается, что на поверхности каждой клетки специализированной ткани постоянно находятся особые белки (полу каналы), которые относительно свободно “плавают” в мембране и за счет плотной упаковки образуют гексагональную структуру. Два полу канала противоположащих мембран соседних клеток, соединяясь, образуют непрерывный гидрофильный межклеточный канал [Johnson R. et al., 1974; Bruzzone R. et al., 1996; Simon A., Goodenough D., 1998]. Предполагается, что подобные соединения имеют особое значение в переносе циклического АМФ и фрагментов молекул РНК.

Сначала говорилось только о двух различных типах белков (так называемых, “коннексинах”), определяющих возникновение ультраструктуры коннексонного типа. Один из них имеет молекулярный вес 27000, другой - 47000 дальтон [Hertzberg E., Gilula N., 1979]. Но сейчас уже ясно, что их число намного больше [Stauffer K., 1995; Konig N., Zampighi G., 1995; Jiang J., Goodenough D., 1996; Bone L. et al., 1997;

Ressot C. et al., 1998; Bevans C. et al., 1998].

В ряде работ показано, что связанные таким образом контактные мембраны резко увеличивают свое сопротивление при уменьшении температуры, при снижении уровня экстраклеточного кальция, в случае повреждения мембраны контактирующих клеток или ее деполяризации, при возрастании pH внеклеточной жидкости, при повышении уровня внутриклеточного Ca^{+2} , а также вследствие влияния ингибиторов дыхания и окислительного фосфорилирования [Божкова В.П. и др., 1970; Flagg-Newton J. et al., 1979; Ito S., Sato E., Loewenstein W., 1974; Payton B., Loewenstein W., 1968; Penn R., Loewenstein W., 1966; Rose B., Loewenstein W., 1971; Obaid A. et al., 1983; Moreno A. et al., 1994a, b; Elfgang C. et

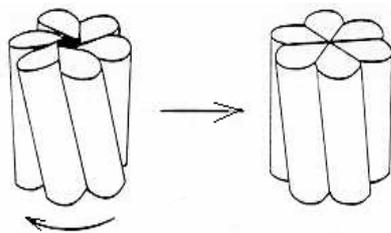


Рис.4. Механизм изменения проницаемости отдельного коннексонального канала.

al., 1995; Cao F. et al., 1998].

Более того, сегодня уже ясно, что в основе разобщающего действия перечисленных выше факторов лежат два принципиально разных механизма. Один из них связан с процессом расхождения мембран соседних клеток (гипертония, устранение ионов кальция из внешней среды, увеличение pH). Другой - обусловлен увеличением концентрации ионизированного кальция внутри клетки (прокол наружной мембраны, отравление цианидом или динитрофенолом, впрыскивание в клетку ионов кальция) (рис.4). Однако, конкретный механизм дезинтегрирующего действия кальция при возрастании его внутриклеточной концентрации до сих пор еще не установлен.

В настоящее время считается, что именно разветвленная система трансмембранных каналов, которые обеспечивают прямую метаболическую связь между родственными клетками (минуя экстраклеточную среду), составляет

универсальную основу согласованного функционирования клеточных популяций самых различных органов [Goodenough D. et al., 1996]. Одним из немногих исключений из этого общего правила являются нейроны центральной нервной системы (ЦНС) человека и животных.

Почему? Как с биологической точки зрения можно объяснить тот факт, что именно на вершине тканевой эволюции орган, на который возложена функция согласования работы различных центрально-периферических структур организма, полностью утрачивает накопленные на предшествующих стадиях биогенеза “наработки” в области биохимической интеграции? Действительно ли медиаторный механизм полностью вытесняет на уровне нейронов ЦНС универсальную (коннекционную) форму построения процессов межклеточного взаимодействия?

Острота этих вопросов становится особенно очевидной в свете многочисленных фактов, свидетельствующих, что нервная система формируется в ходе онто- и филогенетического развития из эктодермы - ткани, клетки которой объединены друг с другом на основе именно коннекционного принципа кооперации. Отсюда неизбежно следует вывод, что на определенных стадиях онтогенеза в нервной системе происходит не только образование синапсов нового (медиаторного) типа, но и массовая дегенерация коннекционной структуры межклеточного объединения. При этом следует учитывать, что объектом такого рода разрушения, кроме самих щелевых контактов, становится вся сложнейшая система связанных с их работой внутриклеточных механизмов, которые весьма эффективно обеспечивали процесс доставки и утилизации клеткой различных жизненно важных для неё субстратов.

Помимо всего прочего, это означает резкое снижение скорости клеточного обмена в сотни и даже тысячи раз. Ведь, как было установлено, отличительной особенностью транспорта химических веществ через коннексоны является очень высокая его интенсивность, которая на 2-3 порядка превосходит уровень обменных процессов между клеткой и

экстраклеточной средой [Brink P., Dewey M., 1978].

Приурочен ли этот ряд событий к какому-то одному определенному сроку созревания ЦНС? Или процесс смены одного типа межнейронных контактов на другие происходит постепенно? Если да, то имеет ли место определенная гетерохрония (разновременность) подобной замены в различных структурах ЦНС, для разных по специализации нейронов? Связано ли это с формированием в ходе онтогенетического развития новых функциональных систем, с изменением гормонального статуса организма, с процессом обучения и т.п.? Какие молекулярно - биологические факторы инициируют уничтожение коннекционной структуры биохимической межклеточной кооперации и возведение на её месте совершенно новой - медиаторной системы, строящейся на основе кардинально иного принципа межклеточного взаимодействия (принципа метаболического “эгоизма”), предполагающего высокий уровень изолированности друг от друга родственных клеточных единиц? Когда именно это происходит, да и происходит ли вообще?

Сегодня уже ясно, что последовательное решение поставленных выше вопросов возможно только в рамках нейробиологического подхода к их рассмотрению. Суть его очень точно, на наш взгляд, определил Д.А.Сахаров, характеризуя основной методологический принцип современных нейробиологических исследований (это эмоционально насыщенное высказывание я уже приводил в одной из предыдущих публикаций).

“В основании нейробиологии, - пишет он, - лежит простая, разумная и вместе с тем болезненно непривычная мысль, что нервная система - это управляющее устройство, выполненное биологическими средствами. И, следовательно, механизмы управления унаследованы нервной системой от тех управляющих систем, которые существовали в живой природе задолго до возникновения мозга” [Сахаров Д.А., 1987, С.6].

Согласно развиваемым представлениям, никакие новые структурно-функциональные свойства нервной ткани, в

частности, медиаторный механизм межклеточного взаимодействия, не возникают в ходе биогенеза внезапно, так сказать, революционным путем. Их образование всегда является следствием постепенной (микро эволюционной) трансформации предсуществующих аналогичных форм с сохранением многих характерных для этих форм качеств. Это заключение в полной мере относится и к сфере синаптических явлений.

Нейробиологические закономерности смены типов межнейронных контактов в ходе онтогенеза

Известные сегодня факты действительно позволяют утверждать, что на ранних стадиях зародышевого развития у всех животных межклеточное биохимическое взаимодействие осуществляется преимущественно через высокопроницаемые каналы коннексонного типа. В работах ряда исследователей [Loevenstein W.,1981; Goodman C., Spitzer N.,1979; Bennet J. et al.,1981] приводятся убедительные доказательства того, что все клетки нейроэпителлия связаны между собой именно щелевыми контактами ("gap junction"). В участках соединения таких клеток отмечаются характерные изменения плазматической мембраны - появление в ней особых гексагональных белковых структур (рис.3), обладающих способностью пропускать не только ионы, но и органические соединения с молекулярным весом до 1000 дальтон и даже выше. Возникновение такого рода контактов подтверждается резким снижением величины электрического сопротивления между клетками; явлением быстрого распространения внутриклеточно вводимых витальных красителей флуоресцеина или Neutral Red; результатами электронно - микроскопических исследований.

Полученные за последние годы данные свидетельствуют и о том, что высокопроницаемые соединения характерны только для ранних стадий развития нервной системы. Клетки, закончившие митоз, в ходе последующего процесса дифференцировки постепенно утрачивают прямые межцитозольные контакты. Этот вывод следует, в частно-

сти, из результатов исследований Jacobson M., Hunt R. [1973], которым удалось установить, что в сетчатке шпорцевой лягушки щелевые контакты обнаруживаются только на ранних стадиях онтогенетического развития. Затем они быстро исчезают. Сходные процессы отмечаются и на уровне сенсорных нейронов амфибий [Spitzer N., 1982].

Постепенный переход от коннекционного механизма биохимической межклеточной интеграции к медиаторной форме является характерным и для ранних стадий развития нервной системы насекомых, дифференцировка нейробластов которых начинается только после дезинтеграции прямых щелевых контактов между ними. Особого внимания в этом плане заслуживают результаты работы Goodman C., Spitzer N. [1979], которым впервые удалось показать, что устранение электрической связи между нейробластами происходит постепенно, по мере появления у них электрической возбудимости и одновременно хемочувствительности к нейромедиаторам.

Аналогичные закономерности обнаружены и для клеток нервной системы млекопитающих на последовательных стадиях её онтогенетического развития. Так, в работе Fulton B. et al. [1980] установлено наличие электротонических синапсов между мотонейронами новорожденных крысят. Методом замораживания - скалывания доказан факт существования высокопроницаемых щелевых контактов между дендритами корковых нейронов эмбрионов овец и человека [Mollgard K., Moller M., 1975].

По данным электрофизиологического анализа и результатам цитологических исследований, свыше 70% корковых нейронов новорожденных крысят объединены друг с другом системой щелевых контактов. Но уже к концу 2-й недели число соединенных таким образом клеток снижается до уровня 20 - 30% [Connors B. et al., 1983]. Эти и другие полученные данные показывают, что прямая связь через коннексоны очень распространена в незрелом неокортексе. Но степень её влияния уменьшается по мере того, как увеличивается число химических (медиаторных) синапсов.

Таким образом, процесс формирования многокомпонентных нейронных систем благодаря коннексонной форме связи между отдельными их элементами, по-видимому, реализуется лишь на самых ранних стадиях онтогенеза. Этим объясняется, в частности, очень высокий уровень синхронизации биоэлектрических разрядов нервных клеток незрелого мозга и появление характерных высоко амплитудных вызванных потенциалов в коре плодов млекопитающих в ответ на раздражение афферентных нервов [Максимова Е., 1979].

Все это дает основания утверждать, что коннексонная форма связи между нейронами обеспечивает возможность их согласованного функционирования в тот период, когда количество медиаторных синапсов в мозге ещё очень мало. Вместе с тем, считается, что подобная форма межклеточной коммуникации не обеспечивает того уровня функциональной дифференцированности нервной ткани, который необходим для построения сложных форм приспособительной деятельности. Этим и объясняется биологическая значимость смены одного механизма биохимического межклеточного объединения на другой.

Однако в последнее время этот общепринятый вывод все чаще начинает подвергаться серьезным сомнениям. Как показывает проведенный анализ, переход к механизму медиаторной взаимосвязи на самом деле не позволяет достичь избирательности информационной обработки синаптических посылок, поступающих через разные входы нервной клетки. Именно наличие нейромедиаторной системы неизбежно приводит к “информационной гомогенизации” различных по биологической и сенсорной модальности сигналов в результате их преобразования в унифицированную электрическую форму постсинаптических потенциалов с последующей суммацией на мембране нейрона. Такого рода “сваливание в одну общую кучу” разнородных синаптических посылок исключает возможность селективного использования заложенной в них информации в ходе построения процессов афферентного синтеза и приятия ре-

шения [Анохин П.К., 1974].

В качестве альтернативы предлагается система представлений, в соответствии с которой процессы, происходящие на синаптическом уровне в ходе онтогенетического развития организма, не сводятся к переходу от исходного (коннексонного) принципа клеточного объединения к медиаторному. В действительности, имеет место постепенное (эволюционное) возникновение контактов, обладающих свойствами синапсов смешанного типа [Shapovalov A., 1980; Lopresti V. et al., 1974 и др.). Т.е., в ходе онтогенеза нейроны мозга отнюдь не утрачивают “коннексонные традиции” своих взаимоотношений друг с другом, а лишь дополняют их новой медиаторной составляющей. И именно в результате сочетания этих двух молекулярно-биологических механизмов каждый синапс получает индивидуальную функциональную маркировку, обеспечивающую очень высокий уровень избирательности построения процесса межнейронного взаимодействия.

Теория интегративной деятельности нейрона

В наиболее последовательной форме эти представления получили своё развитие в рамках концепции интегративной деятельности нейрона [Анохин П.К., 1971; 1974].

При формулировке основных положений этой теории особое внимание было обращено на результаты тех электронно - микроскопических исследований, которые свидетельствуют, что белковый аппарат, образующий сложно организованную систему микротрубочек и филаментов, не только не утрачивается нейронами взрослого мозга, а, наоборот, интенсивно разрастается, приобретая гипертрофированную форму [Анохин П.К., 1974]. Причем, в общей картине её построения отчетливо прослеживается характерная направленность микро каналов именно от субсинаптических областей нервной клетки в её центральные структуры (в область ядра и эндоплазматического ретикулума) (рис.5). Прямым следствием этого является очень высокий уровень метаболической конвергенции на одном нейроне. Если в

обычной специализированной ткани коннексонные элементы соединяют цитозоли всего лишь нескольких соседних клеток, то в мозге подобная сеть каналов потенциально может объединять на уровне цитозоля одного нейрона несколько тысяч дистантно расположенных клеточных элементов.

Основные положения теории интегративной деятельности в предельно сжатой форме можно сформулировать следующим образом.

Решающее значение в реализации механизмов синаптического взаимодействия в нервной системе человека и животных принадлежит процессам, которые разворачиваются не только на уровне межклеточных контактов (см. рис.1, 2), но и в центральных структурах нервной клетки (рис.5). Именно здесь индуцируется особый комплекс вторичных биохимических реакций, которые, сохраняя строгую специфичность в отношении вызывающих их нейромедиаторных посылок, детерминируют в ходе взаимодействия друг с другом определенный паттерн разрядной активности постсинаптического нейрона. Ультраструктурную основу избирательного внутриклеточного распространения вторичных нейромедиаторных процессов составляет разветвленная система микрофиламентов и микротрубочек, начинающихся в субсинаптических областях нейрона и оканчивающихся в его около ядерных зонах. В основе мультипараметрической детерминации активности отдельного нейрона лежит принцип устранения избыточного числа его степеней свободы в процессе вовлечения в состав интеграции центрально-периферических элементов, взаимодействующих на достижение полезного для организма приспособительного результата. Процесс этот не связан с суммацией на мембране нервной клетки возбуждающих и тормозных постсинаптических потенциалов.

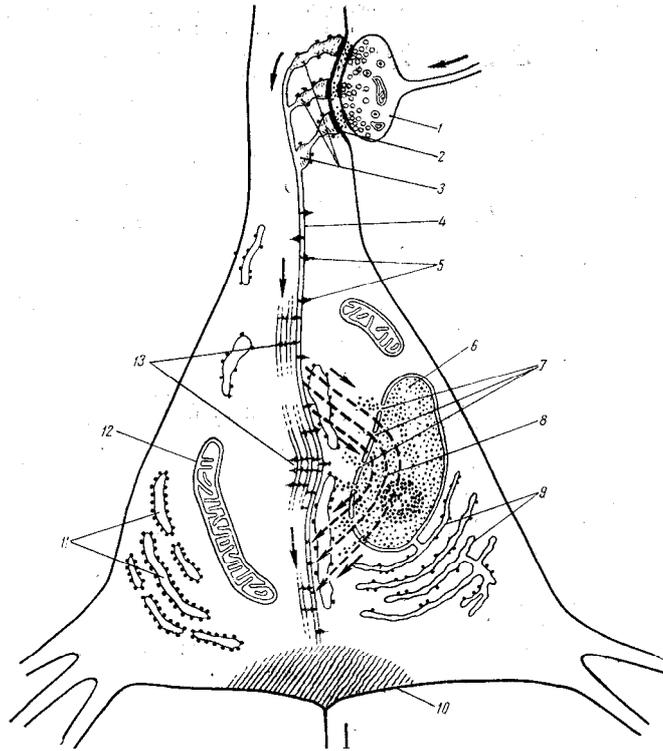


Рис5. Обобщающая схема, которая, по мнению П.К.Анохина, наиболее точно отражает последовательные этапы реализации процесса синаптического межнейронного взаимодействия. "Как видно, от синаптосомы и через субсинаптическую мембрану идут процессы, которые на субсинаптической стороне формируют химию, способную провести метаболический взрыв в субсинаптической мембране, продолжающийся до области ядра и до аксонного холмика. 1- синаптосома; 2- субсинаптическая мембрана; 3- субсинаптические цистерны; 4- дендритная микротрубочка; 5- шипиковое образование; 6- ядро с рибосомами; 7- поры ядерной мембраны; 8- область химических процессов с участием ядерной РНК и эндоплазматического ретикулума; 9- эндоплазматический ретикулум; 10- аксонный холмик; 11- эндоплазматический ретикулум; 12- митохондрия; 13- область тесного контакта между химическими процессами в трубочках." [Анохин П., 1974 С.71].

Зоной генерации потенциалов действия нейрона является область, находящаяся у основания его аксона (так называемый, аксонный холмик).

Обоснованность разработанной П.К.Анохиным системы представлений сегодня подтверждается данными многочисленных экспериментальных исследований. Так, в работах ряда авторов установлены факты, свидетельствующие об опосредовании конвергирующих к нейрону синаптических влияний специфическими механизмами фосфорилирования белков, активацией транскрипции генов и др. [Кругликов Р., 1986; Byrne J., 1987; Hawkins R. et al., 1993]. Получены данные, доказывающие, что процессы интегративной деятельности нейрона связаны с биохимическими превращениями РНК (транскрипция) и формируемыми ею белками (трансляция), с экспрессией определенных генов [Hyden H., 1980; Ашмарин И.П., 1977; Бородкин Ю.С., 1982]. Обнаружена зависимость между скоростью синтеза РНК и генерацией нервной клеткой потенциалов действия; экзоцитозом нейромедиаторов; синтезом мозгоспецифических белков, в частности S-100; с рядом других функциональных проявлений [Андрианов В.В. 1993, 2000; Шерстнев В.В., 1982; Никитин В., Шерстнев В., 1981; Никитин В., Козырев С., Самойлов М.О., 1992].

Вместе с тем, полученные к настоящему времени данные не только свидетельствуют в пользу основных положений концепции интегративной деятельности нейрона, но и приводят к постановке целого ряда новых вопросов. Особого внимания в этом плане заслуживают:

1. Проблема избирательности процесса внутринейронной обработки гетерогенных синаптических посылок. Как показывают результаты электронно-микроскопических исследований, микротубулярный аппарат нервной клетки в отличие от коннексонов не является системой идеально изолированных друг от друга микротрубочек. Наличие большого числа разрывов в этой структуре, нарушение целостности её элементов отмечал и П.К.Анохин. Вместе с тем, данные биохимического анализа не оставляют сомне-

ний в отсутствии сколько-нибудь значительного числа различных типов вторичных посредников. Как же, в таком случае, осуществляется избирательность "доставки" в центральные структуры нейрона сигналов, приходящих от тысяч синаптических контактов, которыми располагают многие нервные клетки?

2. Открытой сегодня остается и проблема состава нейромедиаторных влияний, способных инициировать в протоплазме постсинаптического нейрона распространяющиеся в его центральные структуры вторичные биохимические процессы. Является ли возникновение последних результатом только разрядной деятельности пресинаптических клеток? Или же определенную роль в их инициации играют подпороговые явления, связанные с постоянно идущим на уровне каждой синаптосомы спонтанным квантовым высвобождением молекул нейромедиатора? Последний вопрос приобретает особое значение в свете данных, которые свидетельствуют, что частота квантовой синаптической "утечки" существенным образом зависит от определенных параметров метаболической клеточной активности, а, значит, паттерн подпороговых нейромедиаторных влияний несет вполне конкретную информационную нагрузку о текущем функциональном состоянии каждой из пресинаптических клеток, включая и, так называемые, "молчащие" нейроны.

3. Известные сегодня факты не дают пока ответа и на вопрос о биохимической основе межнейронных соотношений коннексонного ("десмосомального", по терминологии П.К.Анохина) типа. Какие именно факторы химической природы, в какие фазы возбуждения нервной клетки транспортируются микротубулярным путем в её центральные структуры? Идет ли здесь речь о каких-то строго определенных органических соединениях? Или же процесс метаболической межклеточной кооперации в данном случае охватывает все основные группы метаболитов, как это имеет место в других специализированных тканях?

4. Нерешенной остается и проблема соотношения биохимической индивидуальности нервных клеток и предполагаемого процесса формирования у них единого цитоплазматического пула. Действительно, множество известных сегодня фактов не оставляют никаких сомнений в существенном различии биохимического состава нейронов, принадлежащих даже близкорасположенным участкам мозга. Наличие разных по своей “эргичности” медиаторных систем является лишь одной из многих форм проявления такого рода нейрхимической индивидуальности. Вместе с тем, принцип метаболической межклеточной кооперации предполагает неизбежное выравнивание градиентов концентраций химических веществ, находящихся в цитосолях контактирующих клеток. Как эти два взаимоисключающих механизма сочетаются друг с другом?

5. С этой же проблемой связан и следующий вопрос: почему именно механизм везикулярного экзоцитоза стал играть ведущую роль в построении процессов нейромедиаторного взаимодействия в ЦНС человека и животных? Ведь известно, что молекулы нейромедиатора в синаптических везикулах присутствуют в форме раствора, менее чем 3% концентрации [Куффлер С., Николс Дж., 1979. С.208]. А что из себя представляет остальная (подавляющая) часть везикулярного матрикса, который высвобождается при экзоцитозе и практически полностью заполняет объем синаптической щели в момент “передачи нервного импульса”? Следует ли рассматривать эту компоненту лишь в качестве носителя молекул медиатора? Или же на самом деле она выполняет здесь какую-то иную функцию?

6. Для объяснения основных закономерностей соотношения синаптических влияний и разрядной деятельности нейрона П.К.Анохин предложил “селекционную” модель формирования определенного паттерна нейронной импульсации. В рамках такого подхода нейромедиаторные послылки следует рассматривать не в качестве инициаторов процесса генерации потенциалов действия, а как фактор устранения “избыточного числа степеней свободы” фоновоак-

тивной нервной клетки. Однако результаты проведенных за последние годы исследований показали, что формирование каких-либо устойчивых паттернов нейронной активности таким путем не может быть воспроизведено на основе стимуляционных подходов к моделированию элементарных нейрофизиологических функций. Как в таком случае реализуется указанный механизм?

7. С предыдущим вопросом неразрывно связана и другая, не менее актуальная проблема – проблема градуальности процесса вовлечения нейрона в состав определенной функциональной системы. Детерминация активности нервной клетки путем подавления избыточного числа её степеней свободы неизбежно ставит вопрос о степени проявления этого процесса. В равной ли мере все элементы одной и той же функциональной системы оказываются охвачены такого рода ограничительно-стабилизационными влияниями? Или же в рамках одной и той же интеграции существуют менее и более глубоко вовлеченные в её состав элементы? Если да, то что можно сказать об особенностях системной специализации соответствующих групп нейронов? Какие факторы определяют уровень вовлеченности того или иного компонента в состав функциональной системы?

Рассмотрению этих и целого ряда других, связанных с ними вопросов, будет посвящено дальнейшее изложение.

Глава 3

Принципы метаболической межнейронной кооперации

Возможность существования между нейронами взрослого мозга не только медиаторной, но и коннекционной формы взаимосвязи, прежде всего, предполагает сохранение у них определенного комплекса молекулярно-биологических механизмов, обеспечивающих прямой межцитозольный перенос широкого спектра различных органических соединений (как это имеет место во всех других специализированных тканях).

Однако известные сегодня факты пока ещё не дают оснований рассматривать это предположение в качестве экспериментально обоснованного вывода. Результаты проведенных исследований позволяют уверенно утверждать лишь то, что в процессе межнейронного взаимодействия выделение молекул нейромедиатора всегда происходит только в составе многокомпонентной смеси, включающей набор различных биологически активных веществ [Kuroda Y., McIlwain H., 1974 и др.]. Проникают ли они при этом в цитозоль постсинаптического нейрона - на сегодняшний день остается не ясным. Не известна даже микро временная динамика их нахождения в области межклеточных контактов.

Если для нейромедиаторов конкретные периоды их секреции, взаимодействия с рецепторами и удаления из синаптической щели точно установлены, то в отношении немедиаторной компоненты пока можно строить только более или менее правдоподобные предположения. По-видимому, присутствие на уровне постсинаптической клетки и этих молекул также носит кратковременный ("импульсный") характер. Но обусловлено ли это только реализацией механизма обратного захвата или возникает какая-то иная, более сложная система нейрохимических соотношений по-прежнему остается не ясным.

С этих позиций, рассматривая немедиаторную со-

ставляющую синаптической передачи в качестве потенциального фактора возникновения межнейронной взаимосвязи коннекционного типа, нельзя не учитывать, что в данном случае речь идет о процессах, которые по своим физико-химическим параметрам существенным образом отличаются от аналогичных процессов, протекающих в других специализированных тканях. Если коннекционная форма взаимодействия между нервными клетками действительно имеет место, то, вероятнее всего, она устанавливается лишь на очень короткие периоды времени. А, учитывая многочисленные данные об изменении проницаемости возбужденной плазматической мембраны нейрона в отношении различных органических соединений [Balear V., Jonston G., 1972; Hopfer V., Groseclose R., 1980; Keller K. et al., 1981; Mata M. et al., 1980; Yarowsky P. et al., 1980], можно сделать предположение о зависимости этого процесса от динамики уровня трансмембранного потенциала контактирующих клеток.

Быстродействующая система локальной аппликации биологически активных веществ

Экспериментальная разработка этого круга вопросов даже сегодня связана с серьезными методическими трудностями. Обусловлены они прежде всего необходимостью анализа нейрохимических реакций, протекающих с очень высокой скоростью, в микро объемах среды и с участием большого числа различных органических соединений. Для объективизации такого рода процессов в качестве первого шага следует считать разработку методов, позволяющих осуществлять локальное, строго контролируемое во времени избирательное подведение к исследуемой клетке определенных химических реагентов (включая меченные флуоресцентными красителями или изотопами органические соединения).

В литературе описан ряд устройств, открывающих возможность решения подобных задач [Franke C. et

al.,1987; Ikemoto Y. et al., 1987; 1988]. Основным функциональным элементом здесь является укрепленный на пьезо-керамическом элементе микро капилляр. Раствор подводимого к клетке вещества подается в форме микроструи, траектория которой контролируется изменяется в зависимости от амплитуды электрического сигнала на пьезоэлементе.

Недостатком предлагаемого технического решения является то, что непосредственно в период подведения вещества химическому воздействию последовательно подвергаются все клеточные единицы, лежащие на пути перемещения микроструи жидкости из ее исходного положения в область локализации тестируемой клетки.

Кроме того, в данном случае интервал времени от момента подачи сигнала на электро-механический преобразователь до момента начала аппликации составляет не менее 1,5 - 2,0 мс. Это исключает возможность применения такого рода устройств при решении задач, связанных с определением показателей возбудимости и метаболизма нервных клеток непосредственно в период их импульсной функциональной активности. И, наконец, большие трудности в трактовке получаемых данных неизбежно возникают из-за не соблюдения здесь условия локальности удаления остатков подводимого вещества. То, что удастся достигнуть таким путем, можно определить как ситуацию "относительно избирательного подведения к отдельной клетке соответствующего раствора и генерализованного его удаления от множества клеток сразу". Ни о каких режимах импульсной аппликации говорить здесь уже не приходится.

Для преодоления перечисленных выше недостатков был разработан микроаппликатор принципиально новой конструкции [Бобровников Л., 1998 б] (рис.6). Достижимый с его помощью технический результат - возможность полной смены состава внеклеточной жидкости в области локализации отдельной клеточной единицы в течение 0,3 мсек - обусловлен тем, что укрепленный на электромеханическом преобразователе микрокапилляр устанавливается внутри подсоединенной к насосу отрицательного давления стек-

лянной микропипетки таким образом, что в исходном положении микрокапилляр полностью находится внутри нее, а при подаче управляющего сигнала на электромеханический преобразователь он выдвигается вперед по отношению к

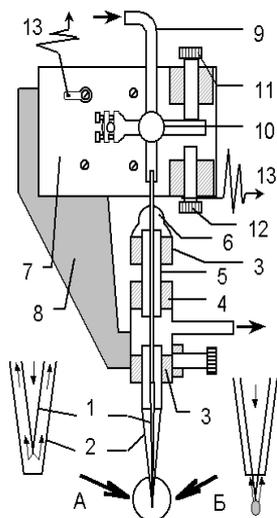


Рис.6. Устройство для локального кратковременного подведения биологически активных веществ.

Подвижный микрокапилляр 1 помещен в отрезок инъекционной иглы 5, в верхней части которой находится резиновый колпачок 6. Для герметизации механических соеди-

переднему ее краю, в результате чего во внеклеточной среде образуется замкнутая зона выхода вещества, размеры которой ограничены областью локализации отдельной клетки.

Для увеличения скорости подведения вещества в качестве электродвигательного элемента используют координатный гальванометр (сельсин), запускаемый двухфазным электрическим сигналом, первая (высокоамплитудная) импульсная составляющая которого обеспечивает максимальное снижение времени задержки срабатывания устройства, а следующая за ней низкоамплитудная фаза определяет необходимую продолжительность периода подведения вещества.

Устройство включает в себя коаксиально расположенные по отношению друг к другу стеклянный микрокапилляр

нений здесь также используются силиконовые уплотнители соответствующего диаметра. Вся эта конструкция вместе с координатным гальванометром 7 закреплена в держателе 8, который установлен на штанге позиционера, обеспечивающего точные микро перемещения устройства в области локализации исследуемой клетки.

Подача раствора биологически активных веществ осуществляется под давлением +0,6атм через полиэтиленовый катетер 9 (LKB ID 0,85 мм), плотно надетый на микрокапилляр 1 и зафиксированный винтом 10 на осевой площадке сельсина 7. Соответственно, удаление жидкости из объема микропипетки 2 производится через боковой канал тройника 4, который подсоединен к насосу отрицательного давления (-0,2 атм). Исходное положение микрокапилляра 1 по отношению к микропипетке 2, а также амплитуда его перемещения регулируются двумя ограничительными микрометрическими винтами 11 и 12. Они же используются в качестве контактов, которые при помощи электрических проводников 13 включены в одну из цепей определения скорости срабатывания прибора. Схема электронного комплекса, обеспечивающего функционирование микроаппликатора, представлена на рис.7.

Устройство работает следующим образом. В исходном положении (поз.А на рис.6) микрокапилляр 1 полностью находится внутри подсоединенной к насосу отрицательного давления микропипетки 2, поэтому весь выходящий из него раствор сразу же удаляется через боковой канал тройника 4, не попадая в экстраклеточную среду. Через 0,2 мс после подачи на обмотки сельсина 7 управляющих высоковольтных сигналов возникает угловое перемещение его оси, вызывающее, в свою очередь, поступательное движение катетера 9 вместе с микрокапилляром 1, который, выдвигаясь вперед по отношению к переднему краю микропипетки 2 во время последующих 0,1 мс образует здесь замкнутую зону выхода вещества (поз.Б на рис.6).

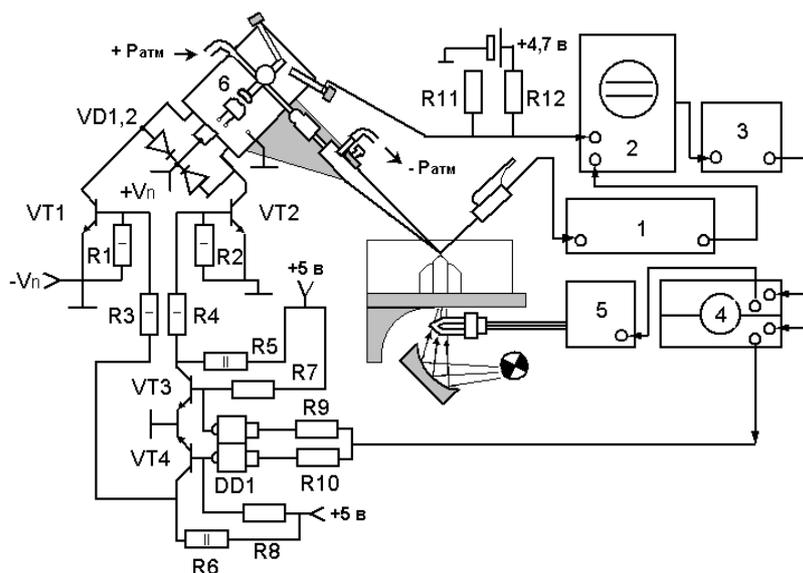


Рис.7. Принципиальная схема электронной системы, обеспечивающей работу микроаппликатора в режиме импульсного подведения биологически активных веществ. 1 - усилитель биопотенциалов М-707 (WPI); 2 - осциллограф VC-9 (Нихон Кохден); 3 - триггер; 4 - двухканальный электростимулятор 302-Т (WPI); 5 - фотостимулятор (Нихон Кохден); 6 - сельсин микроаппликатора (НЗ38/6); DD1 - К555 ЛА9; УТ1,2 - КТ 540А; УТ3,4 - КТ 805; УД1,2 - Д246; R1-R4 - 75 ом; R5,6 - 24 ом; R7,8 - 510 ом; R9,10 - 1,3 ком; R11,12 - 15 ком. +Uп =150 - 300 вольт

После прохождения электрического сигнала микрокапилляр 1 в течение 1 мс втягивается внутрь микропипетки 2. При этом имеет место интенсивное удаление из области локализации исследуемой клетки остатков подведенного вещества. Оптимальная амплитуда управляющего сигнала равняется 150 в, длительность - не более 10 мс. При таких параметрах интервал времени от момента начала подачи управляющего импульса до контакта раствора с поверхностью нейрона составляет около 0,3 мс (см. Приложение 1).

Анализ распространения органических молекул в среде функционально активных нейронов

В первой серии экспериментов проводился анализ микровременной динамики распространения в ЦНС флуоресцеина (мол.вес=376) и нейтрального красного (мол.вес=288,8). Как уже отмечалось, именно эти вещества чаще всего применяются в качестве индикаторов межклеточных соединений коннексонального типа.

Подведение этих веществ к отдельной нервной клетке в рассматриваемом нами случае осуществлялось в импульсном режиме ($\Delta T=10$ мсек, $N=1000$ шт.), в составе раствора Рингера для холоднокровных (0,01 моль/л) ассоциированно с определенной фазой генерации потенциалов действия, а также в межспайковые периоды времени (контроль). Эксперименты проводили на беспозвоночных животных *Helix Lucorum* (рис.8).

В качестве объекта исследования были выбраны идентифицированные клетки ППа1 и ППа4 правого париеального ганглия ЦНС (рис.9).



Рис.8

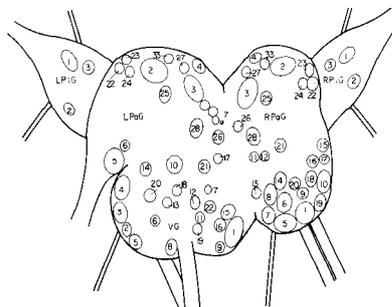


Рис.9

Методика. Каждый опыт включал в себя следующую последовательность экспериментальных процедур. Полуинтактный препарат моллюска помещали в обычную ванночку для электрофизиологического тестирования. К области локализации исследуемой клетки сверху подвели инъекционную иглу, из которой со скоростью 0,25 мл/мин

подавался профильтрованный раствор Рингера для холоднокровных. Такая реализация схемы общего протока резко снижает вероятность блокирования входного канала насоса отрицательного давления в результате случайного попадания в него каких-либо микрочастиц из гемолимфы животного.

Микроаппликатор (рис.6) позиционировали по отношению к препарату таким образом, чтобы в момент максимального выхода из микропипетки центрального микрокапилляра последний оказывался бы на расстоянии около 30 мкм от поверхности нервной клетки.

При помощи микроманипулятора к нейрону подвели регистрирующий стеклянный микроэлектрод, сигнал с которого подавался на вход усилителя биопотенциалов. Далее электрические импульсы преобразовывались триггерным устройством и подавались на вход генератора, формирующего сигнал запуска сельсина, а также на вход фотостимулятора (длительность световой вспышки 0,2 мс, время срабатывания - 0,1 мс).

Такую форму освещения препарата использовали в контрольных определениях, связанных с установлением параметров микровременной динамики подведения вещества (рис.10). С этой целью до начала эксперимента и после его окончания микропипетку 2 (рис.6) работающего в обычном режиме микроаппликатора освещали короткими вспышками света, синхронизованными с сигналом запуска устройства.

При частоте запускающих импульсов порядка 2 имп/сек возникает визуальный эффект неподвижного стробоскопического изображения, соответствующего заданной (режимом "Delay" фотостимулятора) микровременной стадии работы устройства. Зона выхода вещества выглядит при этом как характерная анизотропность (рис.6 поз.Б), появляющаяся в растворе в определенном интервале "Delay" (рис.10).

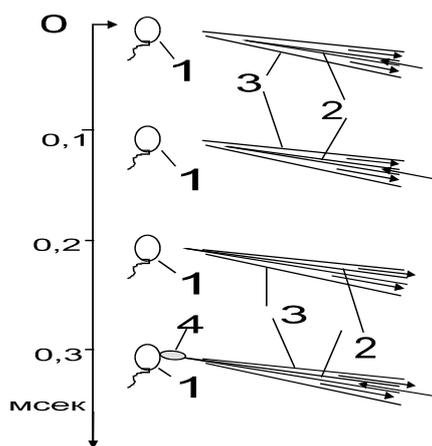


Рис.10. Микровременная динамика подведения вещества к нервной клетке (от момента подачи переднего фронта сигнала запуска микроаппликатора). 1- нейрон; 2- капилляр с раствором; 3- стеклянная микропипетка; 4- зона выхода вещества.

Отведение нейронной активности осуществлялось внутриклеточным способом стеклянными капиллярами, заполненными раствором KCl (2,5 моль/л). Для регистрации биопотенциалов применялся микроэлектродный усилитель марки М-707 (WPI), двухканальный осциллограф VC-9 и чернилопишущий прибор Н3030.

Период тестирования каждой клетки включал в себя отведение 1000 электрических импульсов. При денситометрическом определении интенсивности окрашивания цитозоля клетки использовали тринокуляр МФН-11 с фотоэлектронным умножителем ФЭУ-106 в качестве детектора фотонов и систему интерференционных светофильтров.

Подсчет числа фотонов производился с помощью хемолуминографа ХЛМЦ-01 (напряжение отсечки - 2 v, период измерения - 1s).

После завершения опыта исследованный нейрон извлекали из ганглия при помощи микропинцетов и дозатора "Eppendorf Varipette 4710", переносили на нитроцеллюлозную мембрану и аналогичным образом проводили контрольное определение интенсивности окрашивания клетки.

Результаты исследования. При постановке и проведении этой серии экспериментов одна из основных задач виделась в том, чтобы максимально точно воспроизвести классическую методику объективизации межклеточных соединений коннексонного типа. Этим определялся выбор индикаторов, их концентрации в подводимом растворе, а также методика определения концентрации индикатора в цитозоле клетки и др. Принципиальное отличие (рис.11) заключалось лишь в том, что указанные вещества могли по условиям опыта попадать в цитозоль нейрона только из замкнутой зоны выхода, образующейся на короткое, строго

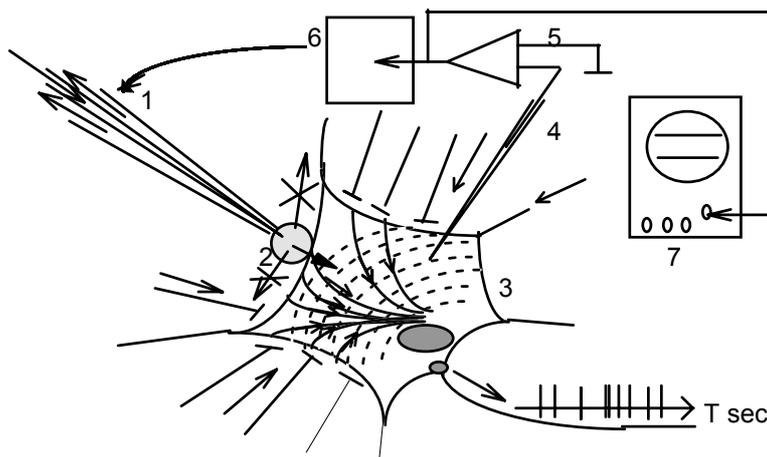


Рис.11. Схема, отражающая основную идею проведения экспериментов, а именно, создание в импульсном биоуправляемом режиме замкнутой зоны выхода вещества, из которой органические соединения могут распространяться только в цитозоль одной строго определенной нервной клетки и никуда более. 1- микроаппликатор; 2- зона выхода вещества; 3- нейрон; 4- регистрирующий микроэлектрод; 5- усилитель; 6- управляющее устройство (см. рис.7); 7- осциллограф VC-9.

контролируемое время ($\Delta T=10$ мсек) в определенном локусе плазматической мембраны.

Основные результаты представлены в таблице 1.

Индикатор +АЦХ	Нейрон	Меж-спайк	Последовательные фазы генерации потенциала действия.		
			0–10 мс	10–20 мс	20–30 мс
FLU	ППа1	132 ±19	319 ±17	1125 ±129	2214 ± 110
	ППа4	113 ±15	489 ± 24	1114 ± 122	1319 ± 284
NEU RED	ППа1	213 ±24	410 ± 19	2128 ± 213	2214 ± 173
	ППа4	210 ±18	398 ± 15	1212 ± 118	1414± 165

таблица 1

Первое, что сразу же обращает на себя внимание, резкое возрастание интенсивности трансмембранного переноса на всех рассматриваемых микроэтапах генерации потенциала действия.

Важно отметить, что ацетилхолинхлорид в концентрации 0,2 мМ не вызывает устойчивых биоэлектрических ответов нервных клеток даже в форме возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП), не говоря уже о потенциалах действия. Это достаточно странный, на первый взгляд, вывод. Но к его обсуждению мы вернемся в следующей главе. Сейчас же, стоит подчеркнуть, что решающим фактором повышения интенсивности трансмембранного переноса классических индикаторов каналов коннексонного типа является комплекс процессов, связанных с нейромедиаторным воздействием, приводящим к запуску механизма генерации потенциала действия.

Более того, временная динамика подобных изменений свидетельствует о существовании значительно более сложной зависимости, чем простой симпорт (ко-транспорт) ионов Na^+ и соответствующих органических соединений. Это обстоятельство неизбежно приводит к постановке во-

проса о специфичности такого рода трансмембранного переноса в отношении разных органических соединений, различающихся, прежде всего, своим молекулярным весом.

Особенности аминокислотного обмена нервной клетки в период генерации потенциала действия

Для того, чтобы установить конкретные характеристики этого процесса был проведен сравнительный анализ динамики трансмембранного переноса двух различных по молекулярным весам аминокислот – лейцина (мол. вес 131,2 гр.) и глицина (мол. вес 75,07 гр.) в период генерации одиночного потенциала действия.

Учитывая слабую выраженность наблюдаемых изменений, для решения поставленной задачи был применен более чувствительный метод определения, а именно, проводили автордиографическое исследование интенсивности поглощения отдельным нейроном меченных изотопами аминокислот в условиях локального их подведения в микроинтервалах времени, соответствующих определенной фазе ряда последовательно регистрируемых биоэлектрических разрядов [Бобровников Л.В., 1991; 1992]. Объектом изучения были идентифицированные клетки ППа1 и ППа4 полуинтактного препарата ЦНС виноградной улитки *Helix Lucorum*. При проведении экспериментов применяли быстродействующие микроаппликаторы специальной конструкции (рис.6).

Определение конфигурации зоны выхода вещества, длительность его нахождения в составе внеклеточной жидкости и микровременную динамику удаления из неё проводили с помощью микрозонда специальной конструкции (см. Приложение 4).

В основной серии опытов у каждой из исследуемых клеток отводили 1000 потенциалов действия, что соответствовало в среднем 50-ти минутному периоду ее регистрации. Продолжительность аппликации импульсной изотопной метки во время отдельного спайка составляла 10 мсек. В качестве подводимых веществ использовали D,L/2,3H/-

лейцин и /2,3Н/-глицин (10 мкКи/мл; 1,2 мкмоль/л), приготовленные на растворе Рингера для холоднокровных (рН=7.4).

После завершения эксперимента нервную ткань замораживали при $T=-70\text{ C}$, а затем на 12 часов помещали в абсолютный этиловый спирт ($T=-20\text{ C}$). Срезы толщиной 10 мкм монтировали на предметных стеклах, которые после этого покрывали тонким слоем фотоэмульсии типа Р. Время экспозиции радиоавтографов при $T=+4\text{ C}$ составляло 10 дней. При проявке использовали проявитель D-19, а в качестве фиксажа - 30% раствор гипосульфита. Интенсивность поглощения изотопов оценивали путем подсчета количества зерен восстановленного серебра над контуром исследуемой клетки. При статистической обработке полученных данных применяли t-критерий Стьюдента, используя компьютерную программу "Микростат".

В общей сложности было исследовано 160 нейронов правого париетального ганглия ЦНС виноградной улитки. У 80-ти из них (40 ППа1 и 40 ППа4) анализировалась микровременная динамика трансмембранного переноса лейцина. Результаты исследования 80 других нейронов позволили установить аналогичные характеристики переноса другой аминокислоты - глицина.

Основные полученные данные представлены в таблице 2.

Первое, что обращает на себя внимание при рассмотрении установленных закономерностей - наличие быстропротекающих изменений интенсивности поглощения аминокислот в период генерации потенциала действия. Процесс этот, как выяснилось, характеризуется устойчивой микровременной динамикой, а именно, в период деполяризации плазматической мембраны наблюдается относительное снижение скорости трансмембранного переноса, после чего имеет место резкое возрастание его интенсивности. Причем, величина указанных изменений для разных аминокислот оказывается существенно различной ($p<0,01$), что позволяет говорить о специфичности работы систем активно-

го транспорта разных органических соединений в период генерации одиночного потенциала действия.

Таблица 2

Аминок-та	Нейрон	Межспайк	Последовательные фазы генерации потенциала действия.		
			0–10 мс	10–20 мс	20–30 мс
LEU	ППа1	12 ± 2	9 ± 1	25 ± 2	14 ± 1
	ППа4	13 ± 2	9 ± 1	14 ± 1	19 ± 2
GLI	ППа1	13 ± 2	10 ± 1	28 ± 2	14 ± 1
	ППа4	12 ± 1	8 ± 1	12 ± 1	14 ± 1

Необходимо особо отметить, что в межспайковые интервалы времени показатели скорости поглощения обеих аминокислот достоверно не различаются ($p > 0,05$). Т.е., возникновение такого рода отличий является именно особенностью периода реализации специализированной функции нейрона.

Несомненный интерес представляет и тот факт, что установленные изменения по своей продолжительности значительно превосходят длительность самого потенциала действия. Более того, максимум интенсивности трансмембранного переноса аминокислот приходится на постспайковые интервалы времени. Т.е. наиболее выраженные изменения, связанные с генерацией потенциала действия, происходят в постактивационные (в традиционном понимании) периоды.

Эти данные, помимо всего прочего, свидетельствуют о достаточно сложном механизме трансмембранного переноса аминокислот, который не сводится к простому их котранспорту (симпорту) [Erecinska M., 1987; Revest P., 1985] с поступающими в цитозоль нервной клетки ионами Na^+ . В настоящей работе не ставилась задача выяснить

конкретные молекулярно-биологические основы реализации именно этого процесса. Пока можно лишь констатировать, что по времени он совпадает с повышением интенсивности работы $\text{Na}^+\text{-K}^+$ АТФ-азных систем, обеспечивающих восстановление нарушенного в ходе генерации потенциала действия равновесного распределения ионов внутри и вне клетки.

Особого внимания здесь заслуживает то обстоятельство, что для разных по специализации нервных клеток конкретные временные показатели указанного процесса оказываются различными. Если для нейрона ППа1 пик интенсивности поглощения обеих аминокислот приходится на 15-ую мсек от начала генерации потенциала действия, то аналогичный показатель для нейрона ППа4 уже превышает 30 мсек. Кроме того, в последнем случае более продолжительным является и сам период усиления трансмембранного переноса аминокислот.

Более того, как выяснилось, определенные отличия (правда, в значительно менее выраженной форме) обнаруживаются и у идентифицированных нейронов одного типа в зависимости от средней частоты их разрядов. На рис.12 представлены результаты соответствующего корреляционного анализа, проведенного для нейронов ППа4, которые имеют достаточно большой разброс средней частоты фоновой импульсации.

Установлено, что ее увеличение сопровождается снижением амплитуды постспайкового трансмембранного переноса обеих аминокислот. Т.е. в данном случае проявляется статистически достоверная ($p < 0,05$) обратно пропорциональная корреляционная зависимость между сопоставляемыми рядами параметров. Причем, величина коэффициента корреляции для показателей интенсивности поглощения лейцина ($R = -0,82$) оказывается выше, чем у другой аминокислоты - глицин ($R = -0,63$).

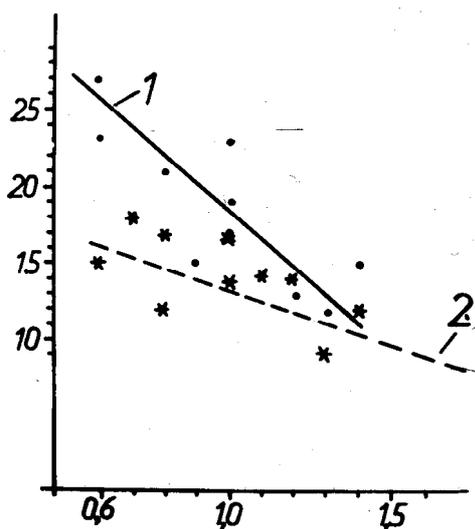


Рис.12. Зависимость интенсивности переноса $3H^+$ -лейцина (1) и $3H^+$ -глицина (2) в постспайковые периоды времени от текущей частоты разрядов нейрона. По оси абсцисс - средняя частота генерации потенциалов действия, имп/с. По оси ординат - количество зерен восстановленного серебра над контуром исследуемой клетки.

Обращает на себя внимание высокий уровень разброса величин интенсивности поглощения меченных органических соединений на уровне одних и тех же идентифицированных нейронов. В связи с этим необходимо отметить следующий важный, на наш взгляд, момент, касающийся методики проведения экспериментов. Нельзя не учитывать, что динамика трансмембранного переноса из замкнутой зоны выхода вещества (см. рис.11) может существенным образом отличаться от динамики их транспорта через естественные межклеточные контакты коннексонного типа. С аналогичными проблемами трактовки получаемых данных, как известно, сталкиваются и исследователи, занимающиеся микроионофоретическим анализом нейромедиаторных рецепторов [Пивоваров А., Дроздова Е.И., 1997]. И в этом случае подведение соответствующих веществ осуществляется не в область синаптической щели, где сконцентрированы белки-рецепторы, а в произвольную зону прилежащую к плазматической мембране. Тем не менее, характерные реакции нейротрансмиттер-рецептор проявляются в отчет-

ливо выраженной форме. Это свидетельствует о том, что медиаторные синапсы являются образованиями полуоткрытого типа. Поэтому составляющие внеклеточной жидкости вполне могут поступать в объем синаптической щели, вызывая специфические для них эффекты. Кроме того, здесь нельзя не учитывать и наличие большого числа белков-рецепторов и белков-полуканалов коннексонного типа, свободно “дрейфующих” в поверхностном слое плазматической мембраны.

Резюме. Рассмотренные выше данные позволяют достаточно уверенно говорить о наличии в ЦНС единого цитоплазматического пула, в рамках которого различные органические соединения могут относительно свободно перемещаться из цитозоля одной нервной клетки в другие, минуя “просторы” экстраклеточной среды. В этом плане мозг человека и животных с точки зрения своей клеточной организации принципиальным образом не отличается от других специализированных органов и тканей. Во всех случаях объединение клеток в согласованно функционирующее целое происходит на основе именно принципа метаболической кооперации.

Вместе с тем, полученные данные указывают на наличие здесь значительно более сложной формы организации этого процесса, нежели тот, который осуществляется между родственными клетками других специализированных тканей. Прежде всего, имеется в виду кратковременный характер установления между нейронами соотношений коннексонного типа. Кроме того, обращает на себя внимание тесная зависимость этого процесса от текущих параметров разрядной активности нервной клетки. Вследствие этого, использование традиционных методических подходов к анализу явления метаболической межнейронной кооперации оказывается неэффективным. Объективизировать этот процесс можно только на основе специальных способов исследования, обеспечивающих высокий уровень быстроедействия анализирующих систем.

Разработка и применение указанных методов имеет важное значение и по другой причине. При детальном рассмотрении результатов предыдущей серии экспериментов, выяснилось, что в режимах импульсной аппликации флуоресцеина и нейтрального красного, обеспечивающих их наиболее интенсивное проникновение в цитозоль нервной клетки, паттерн биоэлектрических разрядов последней претерпевает существенные изменения. Такого рода перестройки, как выяснилось, носят сложный, разнонаправленный характер. Описать динамику их формирования в рамках простых причинно-следственных соотношений "биохимический стимул-биоэлектрическая реакция" невозможно.

В свете этих данных приходится признать, что процесс генерации нейроном потенциалов действия представляет собой значительно более сложное во всех отношениях нейрофизиологическое явление, чем элементарная мембранно-ионная реакция клетки на пороговые изменения уровня медиаторного притока.

Более широкий подход, прежде всего, предполагается при оценке временных параметров разрядной деятельности нейрона. Как показывают результаты проведенного анализа, спайковую форму нейронной активности следует рассматривать как комплекс быстропротекающих взаимозависимых процессов, которые охватывают значительно большие интервалы времени, чем период собственно биоэлектрических проявлений. Это относится и к завершающим стадиям генерации потенциала действия, и к начальным его этапам, которые связаны с градуальным переходом от "фоновому" уровню нейромедиаторного притока к пороговым значениям. Основания для такого предположения дают результаты исследований [Коштыяц Ч., 1950; Айрапетян С., Карпенгер Д., 1991], свидетельствующих о медиаторно-зависимом характере ряда базовых внутриклеточных механизмов, избирательно чувствительных именно к подпороговым (предпороговым) изменениям концентрации нейромедиаторов в экстраклеточной среде.

Результаты проведенных исследований позволяют также сделать вывод о том, что и сам процесс генерации потенциалов действия, помимо известных мембранно-ионных феноменов, сопровождается возникновением быстропротекающих изменений интенсивности трансмембранного переноса аминокислот и других органических соединений, которые условно можно отнести к классу "large molecules" [Kanno Y. и Loewenstein W., 1966]. Причем, метаболическое обеспечение разрядной активности разных по специализации нейронов оказывается существенно различным. Более того, определенные отличия проявляются даже на уровне одной и той же нервной клетки в зависимости от средней текущей частоты её разрядной деятельности. В свете этих данных, импульсную активность нейронов приходится уже рассматривать как последовательность быстропротекающих процессов, идентичных только основным своим биоэлектрическим характеристикам.

Динамика хемореактивных свойств нервных клеток

Попытка объяснить причину, по которой молекулы-индикаторы щелевых контактов, проникая в цитозоль нейрона, способны вызывать изменение нейронной активности заставляет ещё раз обратиться к сформулированной П.К.Анохиным гипотезе о внутриклеточной обработке разнородных биохимических сигналов, поступающих через синаптические входы.

В плане более детального рассмотрения этого круга вопросов нами была запланирована и проведена серия специальных экспериментальных исследований, связанных с анализом разрядной активности отдельной нервной клетки в условиях избирательного подведения к ней растворов различных веществ.

В качестве объектов исследования были выбраны идентифицированные нейроны ППа4 правого париетального ганглия полуинтактного препарата ЦНС виноградной улитки *Helix Lucorum*. В экспериментах применяли описан-

ные в предыдущем разделе быстродействующие микроаппликаторы, позволяющие осуществлять локальное (зона выхода вещества менее 30 мкм), кратковременное ($\Delta T=10$ мс) хемовоздействие с последующей интенсивной отмывкой препарата в области подведения (рис.6).

В первой серии опытов проводился анализ вызванной нейронной активности в ряду последовательных импульсных подведений раствора Рингера для холоднокровных (рН=7,4), содержащего АЦХ (5 мМ). Период исследования нервной клетки включал в себя 5 этапов, на каждом из которых осуществлялось по 20 аппликаций. На первом из них частота ритмической хемостимуляции равнялась 1/мин. Затем продолжительность межстимульного интервала градуально уменьшали и она составляла, соответственно, 30 с, 15 с, 10 с и 5 с. Период времени между моментом завершения каждого предыдущего этапа опыта и началом следующего равнялся 15 мин.

У каждой из 18-ти зарегистрированных в этой серии экспериментов нервных клеток отмечалась сходная динамика вызванной разрядной активности. На первых этапах, пока интервал между хемовоздействиями составлял более 30 сек, наблюдались стабильные реакции активационного типа, параметры которых статистически достоверно не менялись в ряду последовательных аппликаций АЦХ (рис.13 А, Б). Вместе с тем, дальнейшее снижение продолжительности межстимульного интервала, как выяснилось, приводит к развитию процесса габитуации.

Начиная с $\Delta T=15$ с, повторные подведения АЦХ уже с 5-7 раза перестают вызывать появление ответных реакций в форме спайковой разрядной активности.

И, наконец, еще большее увеличение частоты подведений АЦХ приводит к возникновению выраженных гиперполяризационных ответов, которые, к тому же, сопровождаются полным подавлением фоновой разрядной деятельности нейрона и резким снижением уровня его возбудимости.

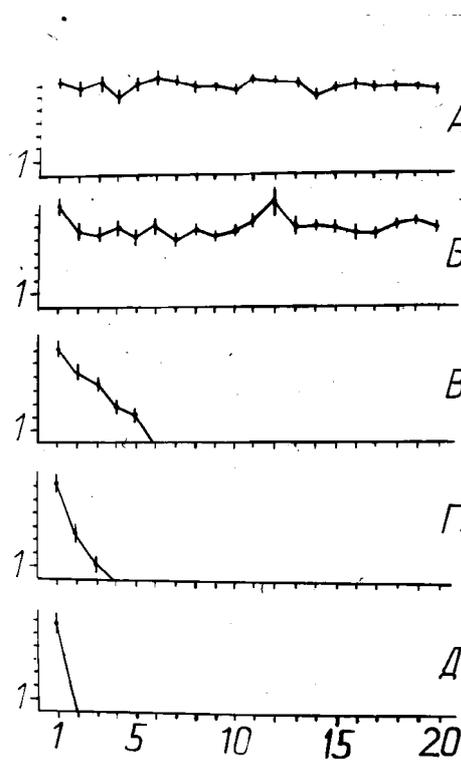


Рис.13. Динамика изменения вызванной нейронной активности в ряду последовательных аппликаций раствора АЦХ (5мМ) в зависимости от продолжительности межстимульного интервала времени. А- 60 с, Б- 30 с, В- 15 с, Г- 10 с и Д- 5 с. По оси абсцисс - номер очередного подведения. По оси ординат - количество потенциалов действия в ответе нервной клетки.

Ряд конкретных количественных характеристик, отражающих указанные изменения, был уточнен во второй серии проведенных на 24-х нейронах ППа4 экспериментов, в рамках которых основной акцент был сделан на анализе возбудимости нервных клеток при разных режимах нейромедиаторной хемостимуляции.

Полученные здесь результаты, прежде всего, показали, что особенностью построения вызванной нейронной активности является независимость ее параметров от конкретного момента начала первого подведения вещества (имеются в виду разные стадии процесса генерации потенциала действия) (рис.14).

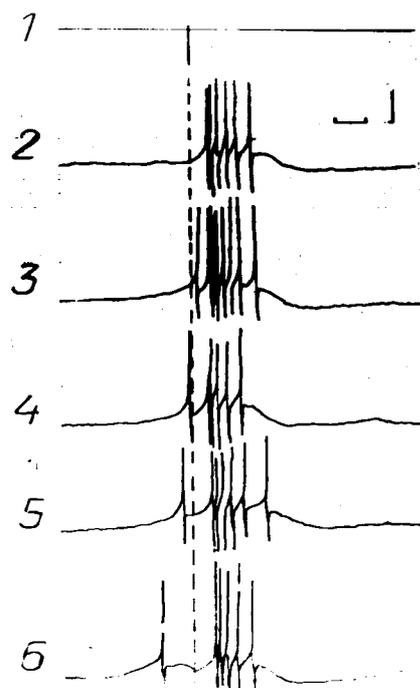


Рис.14. Особенности биоэлектрической активности нейрона в условиях локального кратковременного подведения АЦХ (5 мМ) (отметка на кривой 1) в межспайковые интервалы времени (2) и в разные фазы генерации отдельного потенциала действия (3-6). Калибровка: 1 с, 20 мВ.

И по продолжительности латентного периода, и по степени своей выраженности соответствующие нейронные активации статистически достоверно ($p > 0,05$) не различались. Установлено, что феномен подавления возбудимости на соматическом уровне нервной клетки возникает не на заключительном этапе генерации потенциала действия, а только после завершения активационного процесса, вызванного локальным кратковременным подведением нейромедиатора. При этом, как показывают полученные результаты, возникает особая форма химической чувствительности нейрона, проявляющаяся в виде возникновения воспроизводимых гиперполяризационных (тормозных) ответов на подведение АЦХ.

Обращает на себя внимание и другой момент, а именно, значительное влияние подпороговых (0,07 мМ) им-

пульсных ($\Delta T=10$ мс) аппликаций АЦХ на продолжительность периода снижения клеточной возбудимости. Установлено, что такого рода воздействие, наносимое в постактивационные интервалы времени в течение 5-10 с, вызывает значительное увеличение периода рефрактерности.

В третьей, заключительной серии опытов анализировалась динамика вызванной нейронной активности, возникающей в ответ на кратковременное ($\Delta T=10$ мс) ритмическое подведение АЦХ (5 мМ) на фоне непрерывных импульсных ($\Delta T=10$ мс) аппликаций подпороговых доз этого же вещества. Использовались два независимо работающих микроаппликатора.

Период исследования каждой из 10-ти зарегистрированных клеток включал в себя 5 этапов, в рамках которых при неизменной периодичности нанесения тестирующих стимулов (АЦХ, 5 мМ) - 1 раз в минуту - производилось градуальное снижение продолжительности интервала времени между подпороговыми хемовоздействиями (АЦХ, 0,07 мМ), а именно, 5 с, 3 с, 1 с, 0,5 с и 0,25 с. Также как и в первой серии экспериментов, период между моментом завершения каждого предыдущего этапа опыта и началом следующего равнялся 15 минут. Полученные при этом данные (рис.15) показывают, что постепенное возрастание частоты такого рода воздействий приводит к снижению степени выраженности ответа нервной клетки на пороговые подведения АЦХ, вплоть до полного подавления нейрональных реакций.

В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что хемореактивные свойства нервной клетки определяются не только параметрами соответствующего медиаторного воздействия, но и особенностями временной организации нейромедиаторного притока, развертывавшегося на протяжении значительных интервалов времени, которые предшествовали моменту хемостимуляции. Конкретная форма проявления такого рода зависимости носит достаточно сложный характер и не сводится только лишь к развитию процесса габитуации.

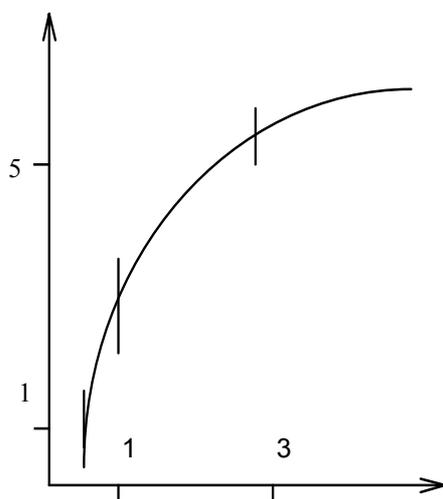


Рис.15. Влияние фактора частоты импульсных подпороговых подведений АЦХ (0,07 мМ) на реализацию пороговых эффектов этого же вещества. По оси абсцисс- продолжительность межстимульного интервала времени, сек. По оси ординат- количество потенциалов действия в ответе нейрона. Пояснение в тексте.

То, что в рамках проводимых экспериментальных исследований до сих пор основное внимание концентрировалось именно на "габитуационных" формах динамики вызванной нейронной активности, с нашей точки зрения, связано с некоторыми особенностями реализации метода микроионофореза, который применялся при решении этого круга задач [Пивоваров А., 1994; Пивоваров А., Котляр Б., 1990 и др.]. В первую очередь имеется в виду значительная продолжительность каждого отдельного микроионофоретического воздействия и, как следствие, невозможность изучения разрядной деятельности нейронов в естественной для них ситуации квантового высвобождения медиаторных молекул с последующим (также быстропротекающим [Massoulie J., Von S., 1982]) их удалением из состава внеклеточной жидкости.

Немаловажную роль здесь может играть и фактор нелокальности подведения. Поскольку "зона выхода вещества" при микроионофорезе составляет не менее 100 мкм [Котляр Б., Овчаренко Ю., 1980], регистрируемый в опыте

ответ по сути дела всегда отражает суммарную реакцию целого ансамбля синаптически связанных между собой нервных клеток. Понятно, что заявляемый анализ функциональных свойств отдельного нейрона ЦНС, не говоря уже о выяснении закономерностей хеморецепции локусов плазматической мембраны изолированной клетки [Греченко Т., 1982], в рамках применяемых до сих пор методологических подходов на самом деле оказывается невозможным.

Как показывают полученные в настоящей работе результаты, преодоление отмеченных выше методических недостатков, действительно, приводит к существенному расширению круга наблюдаемых в опыте нейрофизиологических явлений. Помимо феномена габитуации, здесь уже приходится сталкиваться и со строго воспроизводимыми нейрональными реакциями активационного типа, и с выраженными тормозными влияниями "возбуждающего" нейромедиатора. Такое разнообразие качественно различных форм построения вызванной нейронной активности явно не вписывается в рамки классической схемы процесса генерации потенциалов действия, как простой мембранно-ионной реакции, возникающей на пороговые изменения уровня нейромедиаторного притока. Да и само понятие "порогового" воздействия (строго определенного по своим физико-химическим параметрам раздражителя, обладающего способностью возбуждать соответствующие клеточные единицы) в значительной мере теряет свой смысл.

Особенно отчетливо этот вывод выглядит в свете результатов второй и третьей серий проведенных нами экспериментов. Как показывают полученные здесь данные, необходимым условием формирования воспроизводимых ответов нейрона на аппликацию нейромедиатора является не только определенная временная структура импульсных подведений АЦХ в предстимульный интервал времени, но и стабильный паттерн "фоновых" нейромедиаторных влияний. Последнее же совершенно не характерно для реального процесса межклеточного взаимодействия из-за наличия спонтанной квантовой "утечки" нейромедиатора, частота

которой меняется в широких пределах в зависимости от многих факторов [Birks R., Maclontosh F., 1957; Fatt P., Katz B., 1952; Heuser J., 1979].

Таким образом, если основной акцент исследования делать именно на способности нервной клетки возбуждаться под влиянием определенных изменений поступающего к ней нейромедиаторного притока, приходится признать, что указанную способность в принципе нельзя рассматривать в качестве некоего константного свойства, которое избирательно формируется на ранних стадиях постнатального онтогенеза [Purves D., Lichtman J., 1980] или при обучении [Tsukahara N., 1981]. Возникновение феномена "эффективной" синаптической передачи на уровне любого конкретного синапса может происходить только "ex tempo" по мере динамического развертывания всего комплекса процессов, связанных с построением определенной нейрофизиологической интеграции.

Резюме. Реализация механизмов интегративной деятельности нервной клетки определяется широким спектром качественно различных синаптических влияний, связанных не только с разрядной активностью пресинаптических нейронов, но и с процессами спонтанного квантового высвобождения молекул органических веществ в сочетании с нейротрансмиттерами.

В рамках процесса формирования вызванной нейронной активности решающая роль принадлежит фактору временной организации синаптического притока, развертывающегося на протяжении значительных предстимульных интервалов времени. В результате, одно и то же (потенциально "пороговое") изменение уровня синаптического притока в зависимости от частото-временных параметров последовательности предыдущих нейромедиаторных воздействий может оказывать на постсинаптическую клетку либо активирующее, либо тормозное влияние или же вообще не вызывать каких-либо изменений ее фоновой разрядной деятельности.

Сложная схема детерминации вызванной нейронной

активности проявляется не только на уровне фазных перестроек, но и в характере общей динамики формирования ответов нервной клетки в ряду последовательных хемовоздействий. В условиях квантового высвобождения "возбуждающего" нейромедиатора с последующим (также быстропротекающим) его удалением из состава внеклеточной жидкости, помимо явления габитуации могут иметь место и совершенно иные нейрофизиологические закономерности, а именно, стабильные по своим параметрам реакции активационного типа, а также строго воспроизводимые гиперполяризационные сдвиги уровня трансмембранного потенциала.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО РАЗДЕЛУ "ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКОЙ ВЗАИМОСВЯЗИ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА"

Результаты проведенных исследований, их анализ в контексте данных других авторов прежде всего позволяют сделать вывод о том, что параметры биоэлектрической активности нервной клетки в любой конкретный момент времени определяются показателями синаптического притока в значительно большие периоды, чем тот, который непосредственно предшествует рассматриваемому моменту. По сути дела, детерминирующим фактором здесь является непрерывно меняющийся континуум нейрохимических влияний - имеется в виду весь спектр синаптических посылок, а не только тех из них, которые связаны с разрядной активностью пресинаптических нейронов. Как выяснилось, даже подпороговое импульсное медиаторное воздействие (явление "синаптической утечки") в определенных случаях может выступать в качестве фактора детерминации определенного паттерна нейронных разрядов.

В условиях подведения к нервной клетке растворов с одним и тем же содержанием молекул медиатора, но разной концентрацией немедиаторной компоненты проявляются существенные различия динамики её вызванной разрядной активности в зависимости от конкретных парамет-

ров этой компоненты. Указанные различия касаются как самого факта возникновения биоэлектрической реакции нейронов, так и её изменения в ряду последовательных аппликаций раствора.

Строгое соблюдение условий локальности, кратковременности подведения, точного соответствия состава подводимых растворов их естественным характеристикам позволяют утверждать, что аналогичные нейрофизиологические закономерности имеют место и на уровне нейронов интактной ЦНС.

Особого внимания в этом плане заслуживает вывод о том, что молекулярно-биологическую основу распространяющихся в центральные структуры вторичных процессов составляют не какие-то особые вещества, а широкий комплекс различных факторов химической природы, присутствующих в цитозоле пресинаптических клеток. Эта составляющая межклеточного взаимодействия имеет столь же важное значение для реализации специализированной функции нейрона, как и медиаторная компонента. С этих позиций, синаптический приток представляет собой непрерывно меняющуюся комбинацию одновременно поступающих по разным входам посылок, не подлежащих “информационной гомогенизации” на постсинаптической мембране. Они сохраняют свою индивидуальную информационную значимость на всех последующих уровнях распространения этого процесса в центральные структуры нервной клетки.

Если в свете изложенных выше данных попытаться представить себе последовательность событий, происходящих на синаптическом уровне в процессе межнейронного взаимодействия, получится чрезвычайно сложная картина, имеющая мало общего с исходной схемой однонаправленной медиаторной передачи нервного импульса (рис.1,2).

Прямым следствием такой организации процесса межнейронного взаимодействия является возникновение особой формы соотношения “биохимический приток - биоэлектрическая активность” нервной клетки. Действительно, разнообразие возможных комбинаций синаптических посы-

лок, способных оказывать влияния на процесс генерации потенциалов действия, неизбежно приводит к тому, что ни один из поступающих сигналов в отдельности, ни даже какая-либо определенная их комбинация не способны вызывать воспроизводимые биоэлектрические эффекты на выходе нервной клетки.

Картина происходящих здесь событий становится ещё более запутанной в свете многочисленных данных свидетельствующих о существовании не только прямых, но и обратных (антидромных) влияний в центральных и периферических синапсах химического типа [Schmitt F.,1982; Матюшкин Д.,1975; 1976; 1979; 1980; 1989]. Теоретические расчеты, а также экспериментальные данные, полученные при изучении периферических синапсов, показали, что постактивационное возрастание концентрации ионов калия во внеклеточной жидкости в период деполяризации мембраны нервной клетки должны существенным образом менять квантовый состав синаптической передачи. Позднее удалось установить и другие возможные пути реализации механизма функциональных обратных связей на синаптическом уровне [Драбкина Т.М. и др.,1999].

Не менее важным фактором, определяющим реализацию процесса межнейронного взаимодействия, является и наличие у значительного числа нейронов собственных механизмов генерации разрядной активности.

В основе этого явления лежит, так называемая **пейс-мекерная форма** биоэлектрической активности нейрона, которая проявляется в виде спонтанного возникновения характерных синусоидальных флуктуаций уровня трансмембранного потенциала.

Подобные изменения регистрируются даже в теле одиночного нейрона, полностью изолированного от своего глиального окружения и аксона, а, значит, и от синаптических и электротонических воздействий со стороны других клеток и частей данного нейрона [Костенко М., Вепринцев.,1972; Chen C.et al., 1971]. При достижении пороговых

значений изменения их амплитуды они трансформируются в процесс генерации ритмических потенциалов действия. Сам факт появления такого рода активности, как выяснилось, не зависит от текущих параметров синаптического притока, хотя изменения последнего и способны оказывать существенное модулирующее влияние на работу пейсмекерных механизмов клетки [Соколов Е., 1975].

Этот механизм носит универсальный характер. Он установлен для нейронов животных, находящихся на разных уровнях фило- и онтогенетического развития. Однако в процессе биогенеза, по мере совершенствования синаптических связей в новых структурах (кора больших полушарий) пейсмекерный механизм начинает проявляться в меньшей степени, а доминирующим в формировании ритмической активности нервной клетки становятся экзонейрональные факторы [Гусельников В., Супин А., 1968].

В свете всех этих фактов кардинальным образом меняются представления о значении механизма биохимической функциональной обратной связи в синапсе. Изначально данный механизм рассматривался только как заключительное звено в реализации процесса передачи нервного импульса, точнее говоря, как фактор его оптимизации [Матюшкин Д. и др., 1975; 1977; 1980; 1995]. Между тем, наличие постоянного синаптического притока, в частности, в форме подпороговых воздействий (синаптическая утечка), означает, что на уровне нейронов, обладающих пейсмекерной формой активности, существует инструмент активного влияния не только на поступающий к ним приток нейромедиаторов, но **и не медиаторной компоненты** синаптических выделений.

С этих позиций генерацию нейроном биоэлектрических разрядов приходится уже рассматривать не только в качестве заключительного звена процесса передачи нервного возбуждения, но и как весьма эффективный инструмент постоянного управления параметрами притока различных химических веществ, поступающих от других клеток. Более того, поскольку синаптические посылки своей немедиаторной составляющей способны оказывать влияние на

различные внутриклеточные механизмы, разрядная активность нейрона в рамках такой функциональной схемы выступает одновременно и как инструмент воздействия нервной клетки на ее собственные центральные метаболические процессы. Важно подчеркнуть, что это влияние находится под постоянным контролем со стороны пресинаптических нейронов, которые своим суммарным медиаторным притоком “санкционируют” работу указанного контура нейронной саморегуляции, усиливая или, наоборот, подавляя (даже полностью блокируя) его реализацию.

В связи с этим следует ещё раз отметить роль фактора полимолекулярности (не мономолекулярность); высокий уровень интенсивности трансмембранного переноса на пике импульсной активности и влияние немедиаторной компоненты синаптической передачи на процесс генерации потенциалов действия.

Если к этому добавить наличие сложной многоуровневой системы биохимических обратных связей в синапсе, явление “синаптической утечки”, наличие пейсмекерных форм биоэлектрической активности нейрона - приходится признать исключительную сложность протекающих здесь процессов.

Очевидным является и то, что все эти грандиозные сложности отнюдь не способствуют повышению надежности процесса передачи биоэлектрического импульса от нейрона к нейрону. Напротив, как показывают результаты проведенных исследований, в результате всех этих усложнений синапс по сути дела утрачивает функцию устойчивого передаточного звена в цепи избирательного распространения спайков (рис.16).

Этот вывод приобретает еще большую убедительность в случае, когда речь идет о нейронных сетях, состоящих из многих нервных клеток. Нетрудно посчитать, что даже при относительно высоком уровне вероятности прохождения импульсного сигнала через один такой контакт, допустим $P=0,97$, устойчивое его распространения по цепи, состоящей из 5 синаптически связанных друг с другом кле-

ток уже перестает быть событием статистически достоверным ($P < 0,85$).

Но может быть от нейрональных синапсов это вовсе и не требуется? Быть может, процесс формирования поведенческой активности человека и животных носит настолько динамичный, функционально подвижный характер, что строгая детерминация центрального звена соответствующих функциональных систем оказывается здесь излишней? Может быть, никаких нейронных сетей, обладающих стабильной топологией, в Природе просто не существует?

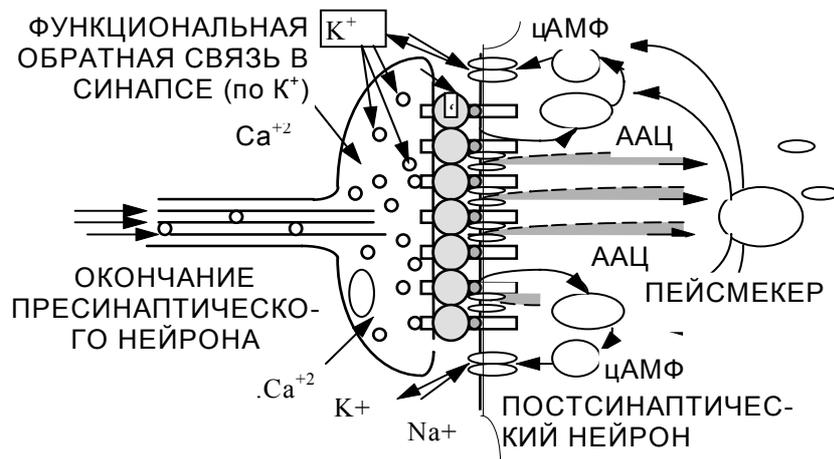


Рис.16. Полученные к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что синаптический аппарат нервной клетки не только обладает колоссальной избыточностью молекулярно-биологического обеспечения процесса передачи нервного импульса. Эта избыточность делает его абсолютно не пригодным для реализации указанной функции. Используя этот аппарат, в принципе невозможно построить многокомпонентную систему синхронно работающих "спайк в спайк" нейронов.

Серьезные аргументы в пользу такой точки зрения уже неоднократно высказывались рядом авторов [Бернс. Б., 1969; Джон Е., 1973]. Весьма убедительными в этом плане являются и выводы Н.А.Бернштейна [1935; 1947], который ещё в начале прошлого века обосновал вывод о принципиальной неуправляемости любого целенаправленного действия системой детерминированных команд, идущих от мотонейронов к мышцам. Как показал проведенный им анализ, в силу ряда особенностей морфологического строения конечностей млекопитающих, каждый такой орган в ходе развертывания даже полностью автоматизированных (стереотипных) двигательных актов всякий раз вынужден взаимодействовать разные по компонентному составу центрально-периферические интеграции клеточных элементов.

В свете всех этих данных, становится совершенно очевидным, что без точного знания того, как ведут себя ансамбли согласованно работающих нервных клеток в естественных условиях - невозможно сформулировать конкретные задачи анализа соответствующих синаптических функций. Только установив основные принципы временной организации работы многокомпонентных нейронных систем, можно выходить на постановку и решение вопросов, касающихся анализа механизмов согласования их активности на синаптическом уровне.

РАЗДЕЛ II

АНАЛИЗ КОЛЛЕКТИВНЫХ ФОРМ НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ В ПОВЕДЕНИИ

Понятно, что решение поставленной задачи предполагает переход от изучения активности отдельных нервных клеток к анализу согласованной деятельности больших их групп. Ясно и то, что постановка экспериментов должна осуществляться только на свободноподвижных животных. Действительно, к настоящему времени уже установлено большое число фактов, свидетельствующих о кардинальном изменении функциональных свойств нейронов в условиях иммобилизации. В последнем случае, по сути дела, приходится говорить об особом разделе нейрофизиологии, в котором констатируются закономерности, имеющие мало общего с реальными процессами, протекающими в нервной системе интактного, свободноподвижного животного.

Но существуют ли сегодня достаточно эффективные методы решения подобных задач? Ведь хорошо известно, что одновременная регистрация даже 3-х или 4-х нейронов в естественных условиях сопряжена с колоссальными трудностями технического порядка. А уж параллельное отведение активности большего числа клеток до сих пор остается несбыточной мечтой. Между тем, в состав любой, даже самой простой функциональной системы входят многие тысячи нейронов.

В связи с этим закономерно возникает вопрос: что могут дать результаты широко проводимых в последние годы исследований активности отдельных нервных клеток для выяснения закономерностей формирования нейронных интеграций? Возможно ли в принципе приблизиться к решению проблемы системных механизмов целенаправленного поведения на такой методической основе?

Получить ответ на эти вопросы проще всего на конкретном примере анализа результатов какого-либо экспериментального исследования, уже проведенного в данном направлении.

Глава 1

Нейронные механизмы инструментального пище- добывательного поведения

Рассмотрим экспериментальную модель, в рамках которой подопытные животные (кролики) до начала регистрации у них активности отдельных нервных клеток обучались выполнять нажатие передними лапами на площадку специальной педали для получения пищи [Бобровников Л., 1982; 1984].

Методика

Опыты проводили в специально оборудованной экспериментальной камере размером 70 x 50 x 80 см. В противоположных ее углах находились автоматическая кормушка и педаль, нажатие на которую обеспечивало животному получение пищи (3-4 гр. моркови). Время от момента нажатия до момента подачи еды составляло 1 сек. Перед началом каждого эксперимента кролики подвергались суточной пищевой депривации. С помощью чернилопишущего прибора проводилась регистрация актограммы и отметок взятия пищи. Для регистрации актограммы к ошейнику животного прикрепляли миниатюрные электролампочки, а на противоположных стенах камеры (возле педали и кормушки) устанавливали фотоэлектрические пластины. По величине суммарной фото ЭДС можно было судить о местоположении животного в тот или иной момент времени.

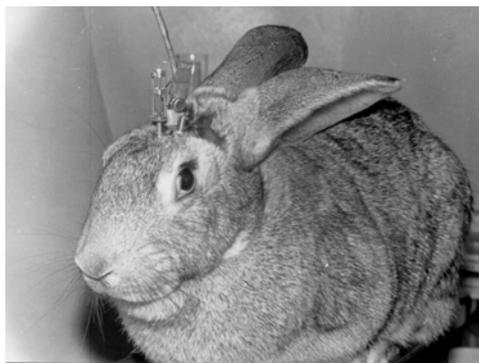
Аналогичное устройство применяли и для контроля за взятием еды из кормушки. Отличие заключалось лишь в том, что в качестве фоточувствительного элемента использовался фотодиод марки ФД-3А, а источником света служил светодиод АЛ-103, работающий в инфракрасном диапазоне частот. При опускании животным морды в кормушку световой поток прерывался, резко снижалась освещенность фотодиода и, как следствие, регистрировалось характерное изменение протекающего через него тока.

У некоторых животных дополнительно по методике

[Basmajian I., Stecko G., 1962] отводилась суммарная биоэлектрическая активность мышц. Полоса пропускания усилителя биопотенциалов составляла 1-1000 гц. Электрические провода подключали в верхней части камеры к специальным вращающимся контактам. Это позволяло устранить дополнительные ограничения при движении кролика по экспериментальной камере. Общая длина электрических проводов равнялась 90 см.

Дополнительно, с помощью диктофона велся подробный протокол каждого опыта. В ряде серий осуществлялась запись на видеоманитофон.

Регистрация разрядной активности отдельных нервных клеток осуществлялась у животных с выработанным и закрепленным инструментальным поведением. Скальпирование осуществляли за два дня до начала нейрофизиологического эксперимента. Со свода черепа кролика удаляли мягкие ткани и надкостницу. Раневую поверхность обрабатывали антисептическими растворами. Непосредственно перед экспериментом проводили трепанацию кости черепа и удаляли твердую мозговую оболочку над областью предполагаемого введения микроэлектрода. Координаты места трепанации определяли по атласу [Monnier M., Gangloff H., 1961]. Для уменьшения пульсаций ткани мозга трепанационное отверстие заполняли коллоидным раствором агарагара.



Импульсную активность нейронов отводили экстраклеточным способом по методике [Гринченко Ю., Швырков В., 1974]. На черепе животного (рис.17) при помощи жидкой пластмассы (норакрил-100) укрепляли специальный держатель

для фиксации миниатюрного микроманипулятора. В экспериментах использовали стеклянные микроэлектроды (диаметр кончика 0,5-1,0 мкм), которые непосредственно перед началом опыта изготавливали на полуавтомате МЭ-3. Заполнение ствола микроэлектрода 2,5М раствором калия хлорида осуществлялось с помощью тонкой полихлорвиниловой канюли

Для регистрации поведенческих показателей, а также импульсной активности нейрона использовался магнитофон марки "Брюль и Кьер-7003".

Необходимое увеличение входного сопротивления усилительного каскада осуществлялось с помощью микросхемы К504 НТ 3А, включенной по схеме, разработанной Rossetto M., Vandercar D. [1972] (рис.18). Точка "А" - подключение к микроэлектроду; точки "Б" и "В" - соединены с двумя вживленными в кость черепа серебрянными макроэлектродами.

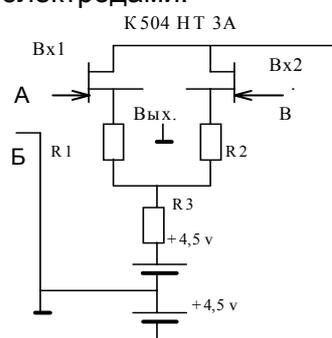


Рис.18.
Схема входного каскада усилителя с высоким уровнем подавления синфазных помех.
R1-R3 - 10 ком

После окончания экспериментов магнитную запись воспроизводили с редуцией скорости в 10 раз на чернилопишущий прибор. Обработка полученных данных включала в себя анализ растров импульсации каждой отдельной нервной клетки, построенных от различных моментов инструментального поведенческого акта. Т.е. использовался один из распространенных методов объективизации феномена фазных перестроек нейронной активности. Именно на основе результатов растрового анализа в дальнейшем про-

водили оценку достоверности изменений частоты разрядов нервной клетки на соответствующем этапе поведения. При этом в качестве сравниваемых параметров брались показатели частоты разрядной деятельности нейрона в течение определенного периода (чаще всего, 1 сек) до выделенного на растре момента времени и после него. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента (предельный уровень значимости $p < 0,05$).

Результаты исследования

Поведение. Поведенческая активность всех животных, подготовленных к проведению экспериментов, носила стереотипный характер. Сразу же после помещения в камеру кролик подбегал к кормушке и, убедившись в отсутствии там пищи, направлялся к педали, нажимал на неё передними лапами, затем вновь следовала побежка к кормушке, поедание из неё пищи, повторное движение к педали ит.д. (рис.19).



Рис.19. Последовательные этапы поведения животного: движение к педали, нажатие на неё, движение к кормушке, взятие пищи и жевание.

Такого рода циклическое инструментальное поведение продолжалось в течение 15-20 минут, после чего возникла относительно непродолжительная пауза, когда пищедобывательные действия временно сменялась комфортным, территориальным поведением и копрофагией. В рамках ориентировочно - исследовательской деятельности кролик метил выделениями подбородочной железы опре-

деленные места экспериментальной камеры, активно обследовал её, часто вставая на задние лапы ("вертикальная активность"). Однако через 5-7 минут исходное циклическое инструментальное поведение снова возобновлялось и продолжалось еще 10-15 минут. Было установлено, что показатели двигательной активности животного во втором периоде реализации его пищедобывательной деятельности статистически достоверно отличались от первого. Это касалось как продолжительности отдельных стадий, так и количества и длительности нажатий на педаль. Существенно возрастали и показатели вариативности соответствующих величин. Это наблюдалось у всех без исключения подопытных животных.

Нейронная активность. В 75 опытах, проведенных на 47 кроликах, была зарегистрирована разрядная активность 239 нейронов коры головного мозга (131 сенсомоторной и 108 зрительной областей). Как показал анализ полученных данных, у 101 нервных клеток на определенных этапах реализации инструментального пищедобывательного поведения имеют место статистически достоверные ($p < 0,001$) изменения параметров их ипульсации. В разрядной активности 17 нейронов отмечалось повторяющееся от акта к акту снижение частоты генерации потенциалов действия. У остальных 84 клеток, наоборот, наблюдалось резкое ее возрастание.

Было установлено, что по мере насыщения животного и, как следствие, снижения уровня пищевой потребности амплитуда активаций (или торможений) нервных клеток также статистически достоверно не меняется. Ни в одном случае нам не удалось выявить корреляционной зависимости между величиной изменения частоты нейронной активности на соответствующем этапе поведения и количеством съеденных кроликом порций пищи.

Тот факт, что амплитуда нейрональных активаций не зависит от временных показателей соответствующего инструментального акта и не меняется в процессе насыщения подопытных животных, позволяет с единых позиций подой-

ти к анализу всей группы зарегистрированных нами нейронов. Период регистрации каждой клетки можно рассматривать как некоторую "выборку" из одной и той же (генеральной) совокупности аналогичных поведенческих актов. При этом на основе методов статистического анализа можно оценить вероятность появления соответствующих перестроек нейронной активности во всех последующих актах инструментального поведения.

Основу такого подхода можно рассмотреть на следующем примере (рис.20).

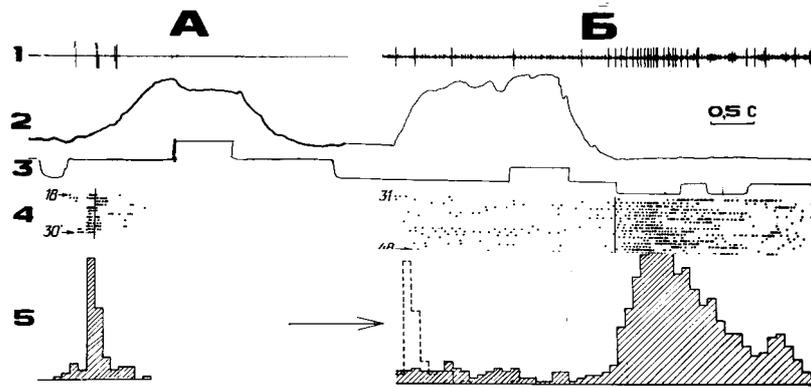


Рис.20. Иллюстрация метода опосредованных корреляций на примере анализа динамики разрядной активности двух последовательно регистрируемых в опыте нейронов. 1- нейронограмма; 2- актограмма перемещений животного в камере (побежка к педали - отклонение кривой вверх, к кормушке - вниз; 3- отметки взятия пищи их кормушки - отклонение кривой вниз и нажатия на педаль - вверх; 4- растры и 5- гистограммы нейронной активности, построенные от моментов начала движения (А) и от момента опускания кроликом морды в кормушку (Б). Каждой точке соответствует один потенциал действия нейрона. Ширина канала 200 мс. Подробное пояснение в тексте.

Один из нейронов (№67) нам удалось зарегистрировать в период времени, когда кролик выполнил 13 инструментальных пищедобывательных актов (с 18-го по 30-й в данном опыте). Во время движений животного к педали наблюдалось возрастание частоты импульсации этого нейрона с $2,0 \pm 0,6$ до $11,0 \pm 1,3$ имп/с.

Начиная с 31-го акта, регистрировалась импульсная активность уже следующей нервной клетки (№68). Между тем результаты сравнения по критерию Стьюдента соответствующих генеральных параметров определенно показывают, что с высокой вероятностью (свыше 0,999) в этот и последующие периоды времени в разрядной активности предыдущего (уже нерегистрируемого) нейрона (№67) будет сохраняться паттерн импульсной активности, который проявился у него в актах под номером 18-30.

Таким образом, период реализации инструментальных пищедобывательных актов, начиная с 31-го, характеризуется уже не одним, а как минимум двумя нейрональными феноменами. Если такой же вероятностный прогноз сделать для других нейронов рассматриваемой нами группы, окажется, что активность всех последовательно зарегистрированных в опыте клеток сопоставима с одной и той же группой поведенческих актов. При проверке нулевой гипотезы мы каждый раз исходили из предположения о нормальном законе распределения параметров генеральной совокупности [Снедекор Дж., 1961, Вентцель Е., 1969].

В ряде случаев нам удавалось убедиться в правильности такого предположения и на основе собственных данных, поскольку разрядную активность некоторых нейронов можно было наблюдать во время реализации достаточно большого числа стереотипных поведенческих актов. Например, нескольких тысяч, как это имело место для клеток, импульсация которых была фрагментирована в ритме жевания (рис.21). Оценка величины асимметрии и эксцесса кривой Гаусса в этих, а также в других случаях свидетельствовала о соответствии генеральных параметров закону нормального распределения.

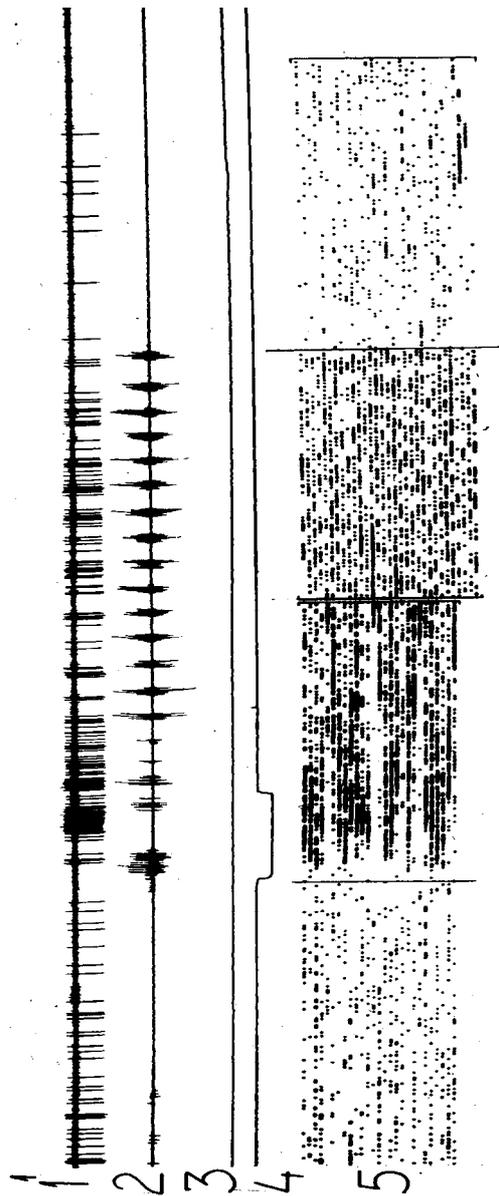
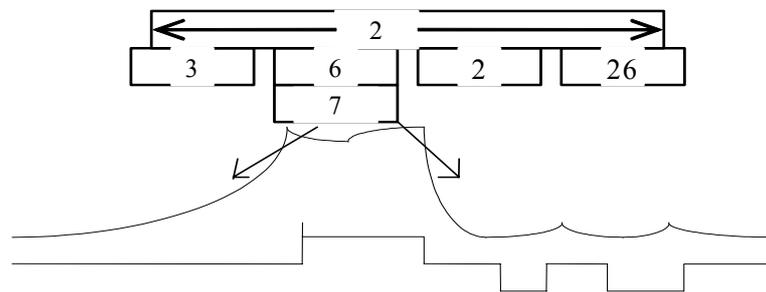


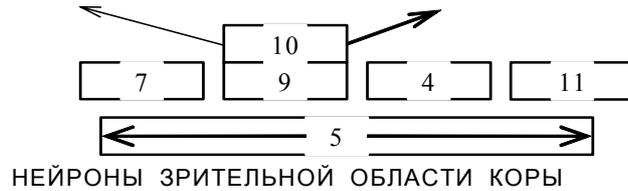
Рис.21. Динамика активности сенсорного нейрона в пищедобывательном поведении. 1- нейрограмма; 2- электромиограмма жевательных мышц; 3- актограмма перемещений животного по камере; 4- отметка взятия пищи из кормушки (отклонение кривой вниз); 5- расстры разрядной активности, построенные от момента опускания морды в кормушку (слева) и завершения жевания (справа).

Сводные данные, отражающие все установленные нами типы проявления феномена поведенческой специализации исследованной группы нервных клеток приведены на рис.22.

• НЕЙРОНЫ СЕНСОМОТОРНОЙ ОБЛАСТИ КОРЫ



К ПЕДАЛИ - НАЖАТИЕ - К КОРМУШКЕ - ВЗЯТИЕ ПИЩИ



НЕЙРОНЫ ЗРИТЕЛЬНОЙ ОБЛАСТИ КОРЫ

Рис.22. Сравнительный анализ структуры фазных активаций нейронов сенсомоторной (А) и зрительной (Б) коры головного мозга в пицедобывательном поведении. Числа отражают количество нейронов, фазно активирующихся на соответствующем этапе инструментального акта.

Самую большую группу нейронов, у которых в рамках сматриваемой экспериментальной модели удалось выявить феномен их поведенческой специализации, составляли клетки, активность которых была связана с заключительной (консумматорной) стадией реализации инструментального пицедобывательного поведения (37 нейронов). Особенности организации их разрядной активности заключалась в

том, что у них резко возростала средняя частота генерации потенциалов действия каждый раз при взятии животным пищи из кормушки. В дальнейшем, как правило, наблюдалась характерная фрагментация разрядной активности в ритме жевания. Обращает на себя внимание очень точное соответствие подобных перестроек нейронной импульсации определенной фазе жевательных движений.

Процентное соотношение такого рода клеток в разных отделах мозга было различным. Если в области зрительной коры их число составляло около 10% от общего числа зарегистрированных здесь клеток, то в сенсомоторной коре их количество составляло уже 20% ($p < 0,05$). Число же нейронов, специализированных в отношении определенных фрагментов движения к педали и к кормушке, напротив было значительно больше именно на уровне зрительной области коры головного мозга. Таким образом, можно говорить о существовании определенных различий в распределении форм специализации нервных клеток по разным структурам ЦНС.

Ещё одной характерной особенностью организации нейронной активности в инструментальном пищеводобывательном поведении с полным основанием можно считать предрезультатный характер перестроек импульсации. Для большего числа зарегистрированных нейронов соответствующие фазные изменения частоты разрядов выявлялись в ходе построения не постстимульных, а предрезультатных гистограмм и растров импульсной активности. Причем, это касалось также и клеток, демонстрирующих закономерно повторяющиеся фазные торможения разрядов.

При рассмотрении полученных данных обращает на себя внимание не только наличие у значительного числа нейронов коры мозга феномена поведенческой специализации, но и разная степень его выраженности у разных клеток. Более того, даже в рамках последовательных реализаций инструментального поведения в активности одного и того же нейрона наблюдалось значительное изменение уровня фазных перестроек импульсации. При этом особого

внимания заслуживает независимость степени выраженности его проявления от двигательных параметров соответствующего действия, включая даже траекторию перемещения животного от кормушки к педали (кругом или челноком).

Необходимо также отметить и тот факт, что у значительной части зарегистрированных нейронов наблюдалось возникновение нескольких фазных активаций на разных стадиях развертывания инструментального пищедобывательного поведения (9 сенсомоторных и 16 зрительных нейронов). Причем, у 7 из них соответствующие активации отмечались на всех без исключения этапах инструментального акта.

Резюме

Обобщая рассмотренные выше данные, необходимо выделить следующий ряд наиболее важных моментов. **Базовым** нейрофизиологическим феноменом целенаправленной деятельности является **феномен поведенческой (системной) специализации нервной клетки**. Проявляется он в том, что у отдельных нейронов головного мозга в поведении наблюдается возникновение повторяющихся однонаправленных изменений частоты их импульсации, приуроченных к строго определенным этапам целенаправленного действия. Появляясь одновременно в сенсорных и моторных областях головного мозга, они характеризуются аномально высоким уровнем стабильности, который невозможно объяснить с позиций основных положений классической нейрофизиологии (рис.23).

У значительного числа нервных клеток указанные перестройки носят выраженный **предрезультатный характер**. Т.е. по времени своего возникновения они не следуют, а предшествуют появлению события, с которым связано их возникновение.

Феномен поведенческой специализации нейронов **аномально стабилен** по уровню воспроизводимости. И по своей структуре, и по степени выраженности закономерно

повторяющиеся от акта к акту фазные нейронные активации сохраняются не только при значительных изменениях различных параметров двигательной активности животного, но даже в случае кардинальной реорганизации некоторых основных условий достижения приспособительного результата.

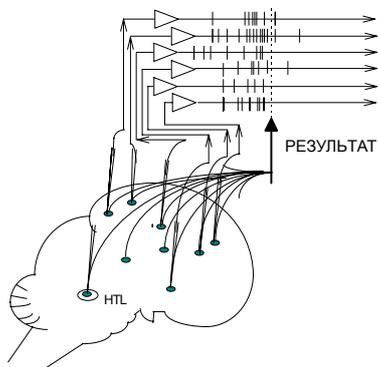


Рис.23. Базовый нейрофизиологический феномен целенаправленного поведения - феномен системной специализации нервных клеток - проявляется в форме возникновения у огромного числа дистантно расположенных нейронов головного мозга характерных фазных активаций.

Обращает на себя внимание и отсутствие направленной динамики изменения фазных перестроек нейронной импульсации в ходе развертывания большого числа идентичных целенаправленных действий.

Как показывают результаты вероятностно-статистического анализа, нейроны, обладающие определенными типами поведенческой специализации, являются компонентами **одной и той же функциональной системы**, в рамках которой активность всех ее составляющих характеризуется очень высоким уровнем временной синхронизации. Узловыми моментами проявления такого рода синхронизации, как правило, выступают определенные события организменного уровня, связанные с достижением животным этапных или конечных результатов. А это значит, что по основным своим признакам указанная группа нейронов полностью соответствует критерию системоспецифичности [Анохин П.К., 1971, 1974].

Глава 2

Принцип оперантной детерминации

Установленные к настоящему времени разновидности поведенческой специализации нервных клеток поражают своим многообразием.

Так, в литературе описаны нейроны, специализированные в отношении определенных направлений перемещения конечности [De Long M., Strick P., 1974]; движений глаз [Гольберг М., Робинсон Д., 1982]; открывания или закрывания рта при жевании [Александров Ю., 1989]. Установлен факт существования нервных клеток, активность которых избирательно связана с различными фазами сна [Jacobs B. et al., 1973]; с уровнем бодрствования [Findlay A., Hayward J., 1969]; с ориентировочно - исследовательской деятельностью [Швыркова Н., 1985]; с произнесением человеком определенных слов [Heit G. et al., 1988]; с фрагментами зоосоциального поведения [Perrett D., 1996], включая поведение ухода за новорожденными животными [Kendrick K. et al., 1992]. Обнаружены нейроны "внимания" [Mountcastle W.B., 1978]; восприятия сложных объектов среды [Ranck J., 1975]; определенной цели [Александров Ю.И., Корпусова А.В., 1987; Швырков В., 1985, 1995]; нейроны "когнитивных карт" [O'Keefe J., 1976]; "экстраперсонального пространства" [Mountcastle W.B., Lynch J., Georgopoulos A., 1975]; нейроны "ошибок" [Thorpe S. et al., 1983] и мн. др.

Сегодня уже не вызывает сомнений, что в данном случае речь действительно идет об одной из универсальных нейрофизиологических закономерностей, которая отражает общее свойство клеток головного мозга человека и животных. Ясно также и то, что рассмотрение этого явления не может ограничиваться только лишь его феноменологическим описанием. Необходим детальный анализ лежащих в его основе нейрофизиологических механизмов.

Понять остроту стоящих здесь проблем можно, рас-

смотрим следующий конкретный пример.

На рис.24 представлен один из зарегистрированных нами нейронов, характерной особенностью которого является наличие закономерно повторяющихся в период взятия животным пищи из кормушки избирательных фазных активаций. Нетрудно заметить, что степень выраженности этих активаций претерпевает существенные изменения от акта к

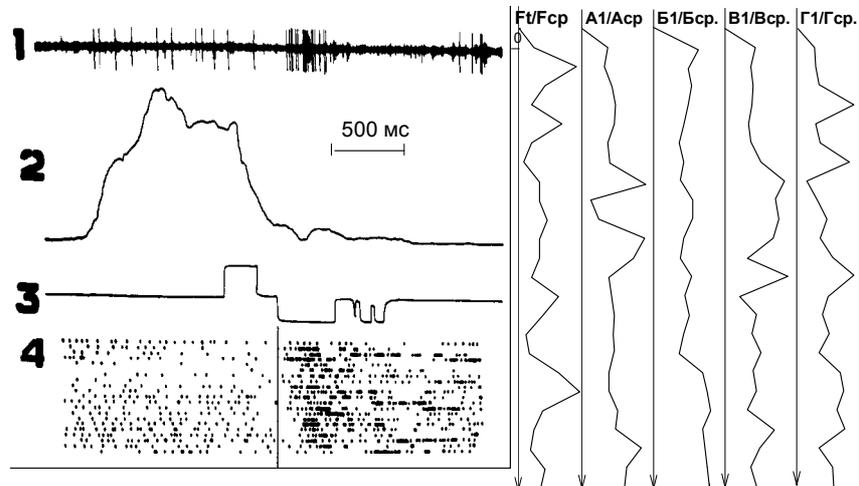


Рис.24. Независимость степени выраженности феномена поведенческой специализации нервной клетки от различных параметров инструментального акта. 1- 4 - обозначения как на рис.20. F- относительная величина отклонения амплитуды фазной активации нейрона от её среднего значения (F_{cp}) А-Г -тоже самое, но для различных показателей поведенческой активности животного: А- время цикла (период между двумя смежными актами взятия пищи из кормушки); Б- продолжительность побежки к кормушке; В- длительность нажатия на педаль; Г- продолжительность периода подхода к педали.

акту. Минимальная её величина для данного нейрона составляет $\Delta F=2$ имп/сек. Максимальное же значение достигает уровня $\Delta F=21$ имп/сек. Вариативны и различные пара-

метры соответствующих действий животного (рис.24 А-Г). В этом также нет ничего удивительного.

Странным является другое. Оказывается, что если в рамках корреляционного анализа сопоставить **степень выраженности** фазных нейронных активаций с величиной отклонения соответствующих поведенческих параметров от их средних значений, никакой достоверной взаимосвязи выявить не удаётся (рис.24 а-г). Это было установлено практически у всех исследованных нами нервных клеток.

Таким образом, получается, что хотя появление закономерно повторяющейся фазной нейронной активации в поведении и определяется факторами организменного уровня, динамика **степени выраженности** этого феномена, в подавляющем большинстве случаев **не зависит** от динамики изменения конкретных параметров поведенческой активности животного.

Несомненный интерес в этом плане представляют результаты экспериментов, связанных с программируемым изменением основных условий реализации целенаправленной деятельности. Например, путем сенсорной депривации подопытных животных [Александров Ю., Александров И., 1981] или при контролируемом затруднении их двигательной активности [Александров Ю., 1982]. Как выяснилось, в этом случае у значительного числа нейронов зрительной и сенсомоторной областей коры их фазная активность не претерпевает каких-либо существенных изменений.

Следует ли отсюда сделать вывод, что роль ведущей детерминанты нейрофизиологических процессов принадлежит не самому поведению, а какому-то иному, связанному с ним ряду факторов? Если да, то каким именно?

Всесторонний анализ этого круга вопросов позволил сформулировать в качестве рабочей гипотезы предположение о том, что императивным фактором формирования устойчивых перестроек нейронной активности в поведении, чаще всего, выступает его **результат** [Анохин П.К., 1974; Швырков В.,1985]. Именно результат организменного уров-

ня определяет в рамках процесса устранения избыточного числа степеней свободы нейронов конкретный паттерн их разрядной деятельности. Другими словами, хотя мы и говорим о феномене “поведенческой специализации” нервных клеток, истинной детерминантой их активности является не само поведение, а скорее, система последовательно достигаемых в ходе его реализации этапных и конечных результатов.

Обоснованность этого вывода и сегодня ещё продолжает вызывать серьезные сомнения, прежде всего, в виду явного нарушения здесь принципа причинности. Действительно, каким образом событие, которое может появиться только в будущем (результат), способно влиять на предшествующий его возникновению ряд нейрофизиологических процессов?

“Закон эффекта” Э.Торндайка

Как ни странно, но ключ к ответу на этот вопрос был найден ещё в конце XIX века - т.е. до того, как И.П.Павлов сформулировал основные положения своей теории условных рефлексов. Именно в те годы американский биолог Э.Торндайк пришел к заключению о существовании особой схемы детерминации поведенческой активности и связанных с её обеспечением физиологических процессов. В рамках этой схемы решающее значение принадлежит событиям, происходящим не перед началом реализации действия, а после его окончания (“закон эффекта”).

Началу проведения специальных физиологических исследований в данном направлении предшествовали достаточно простые поведенческие опыты, связанные с применением особых технических устройств - так называемых, “проблемных ящиков”. Они представляли собой клетку, которую можно открыть изнутри, нажав на рычаг или дернув за кольцо. Заключенная в них кошка, пытаясь убежать, начинает безостановочно двигаться по камере и через некоторое время случайно открывает дверь. Несколько следующих за этим попыток решения данной задачи также реализуются случайным образом.

Однако постепенно кошка сосредотачивает все большее и большее внимание именно на педали и, сразу же после своего помещения в закрытую камеру, выполняет нажатие, обеспечивающее открывание двери. Таким образом, методом проб и ошибок животное постепенно исключает из своего поведенческого репертуара все, что не приводит к подкреплению. С другой стороны, частота актов поведения, обеспечивающих получение положительного подкрепления (т.е. частота оперантно-детерминированных действий) резко возрастает.

Для объяснения изменений, происходящих в поведении животного в этих опытах, была предложена селекционная модель формирования поведения. Основу её составляет следующий ряд посылок:

1) поведенческий репертуар любого живого существа всегда включает определенный набор потенциально возможных в данной обстановке действий;

2) вероятность выбора и последующего развертывания конкретного акта из всей их совокупности - различна;

3) величина этой вероятности определяется особенностями фенотипа животного, а также историей предыдущих реализаций данного действия (его подкреплением или не подкреплением биологически значимыми воздействиями).

Торндайк определил научение такого типа как “метод проб, ошибок и случайного успеха”. Теперь оно чаще всего называется инструментальным научением, поскольку правильная реакция, ведущая к вознаграждению, требует использования специальных “инструментов”.

Таким образом, успех инструментального научения приписывается тому факту, что выработанное поведение может быть непосредственно изменено его последствиями (рис.25). Торндайк считал, что подкрепление повышает вероятность реакции, с которой оно сочетается, потому что усиливает установленную связь между ней и наличной стимульной ситуацией. Этот взгляд стал известен как теория научения по принципу стимул-реакция.

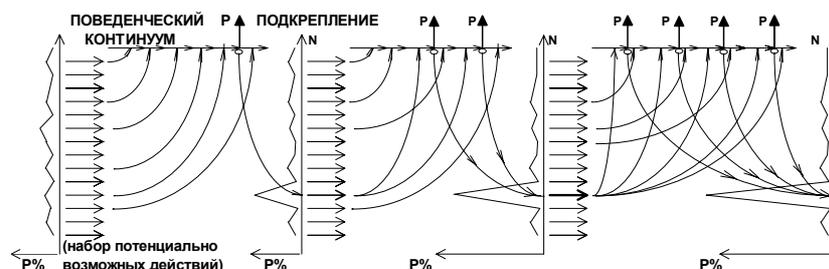


Рис.25. Схема, иллюстрирующая принцип реорганизации поведенческого континуума в соответствии с "законом эффекта" Торндайка; N - условный номер потенциально возможного действия; P% - вероятность его возникновения на поведенческом уровне.

Однако в дальнейшем, Б.Скиннер ввел различие между оперантным и реактивным поведением. Оперантным он назвал спонтанное действие без какого-либо очевидного стимула [Skinner B.,1938]. Реактивным с его точки зрения является всякое поведение, совершаемое в ответ на определенный стимул. Скиннер полагал, что любое оперантное поведение модифицируется и эффективно контролируется сочетающимся с ним подкреплением.

В рамках разработки своей концепции, вместо неоднократного применения стимульных сочетаний, характерного для модели Торндайка и выработки классических условных рефлексов по И.П.Павлову, Скиннер предложил методику свободного оперантного поведения, при которой животному предоставляется возможность совершать без каких-либо существенных ограничений различные действия. Экспериментатор же старается управлять их последствиями. Чаще всего, в таких опытах использовались крысы и голуби.

Подход Скиннера основан на том, что подкрепление способно изменять поведение. Его утверждение о возможности модификации любой деятельности её последствиями иллюстрируется разными играми, которым можно обучить

даже птиц. Так, голубь способен пускать деревянный шар по миниатюрному желобу в направлении расставленных игрушечных кеглей, толкая его резким боковым движением клюва. Крыса легко приобретает способность манипулировать передними конечностями различными рычагами, кнопками и т.п. С решением подобных задач не менее успешно справляются кролики, собаки, кошки и многие другие виды животных.

Но, вместе с тем, здесь сохраняются и определенные ограничения. В частности, подкрепление, применяемое в опытах по оперантному обусловливанию, является также потенциальным безусловным стимулом классических условных рефлексов, т.е. способно автоматически вызывать врожденную совокупность реакций. У кур к этим реакциям относится разрывание почвы лапами в поисках пищи, у свиней - рытье земли рылом.

Как же тогда обстоит дело с реакциями, произвольно выбираемыми Скиннером в качестве объекта подкрепления?

V.R.Moore [1973] показал, что почти во всех случаях это не просто случайные реакции, а часть репертуара инстинктивного поведения, обычно связанного с вознаграждением. Так, упомянутое толкательное движение, производимое голубем в скиннеровском "кегельбане", составляет неотъемлимую часть пищевого поведения - отбрасывание земли в сторону для обнаружения семян. Если это толкование правильно, то следует ожидать, что голуби, клюющие ключ для получения пищевого вознаграждения, будут проделывать это иначе, чем за вознаграждение в виде воды. Как показали контрольные опыты - это действительно так.

Другие данные относятся к феномену, получившему название "autoshaping" (самостоятельное формирование поведения). Если многократно сочетать освещение ключа и появление пищи, то голуби начинают клевать ключ без какой-либо описанной ранее тренировки. Клевание ключа в большом числе опытов по выработке оперантного поведения формируется не в результате инструментального под-

крепления, а непосредственно по И.П.Павлову: с зерном сочетается освещенный ключ, и голуби клюют его так, как будто это зерно.

Однако наиболее острые критические замечания в адрес концепции оперантного обусловливания касаются не этого ряда моментов. Самым уязвимым звеном теории Торндайка-Скиннера долгое время оставалась предложенная ими трактовка инструментального действия как явления, находящегося вне сферы влияния идеальных (не материальных) поведенческих детерминант. В “законе эффекта” его разработчикам, прежде всего, виделась возможность объяснения механизмов целенаправленного поведения без привлечения для этого фактора цели.

Ошибочная установка физиологов того времени на полный разрыв с науками, занимающимися изучением сферы психических (идеальных) процессов, в конечном счете, потерпела провал. Сегодня уже ясно, что любые попытки дистанцировать физиологические исследования от сферы анализа идеальных (психических) процессов не только носят надуманный характер, но и просто исключают саму возможность объективного описания поведения человека и животных. Решение этой задачи возможно лишь в рамках психофизиологического подхода к рассмотрению поведенческой активности, с учетом фактора цели предстоящего действия и его мотивационной основы.

Общая теория функциональных систем

Кардинально новым шагом на пути развития и утверждения этих представлений стала разработка общей теории функциональных систем, которая позволила уточнить исходные представления о единице поведенческой активности и механизмах её детерминации [Анохин П.К., 1968]. В качестве такой единицы с позиций системного подхода выступает не само действие и, тем более, не реакция на стимул, а определенная функциональная система, которая помимо исполнительного действия включает в себя целый ряд других, “обслуживающих” его психофизиологических

механизмов (рис.26).

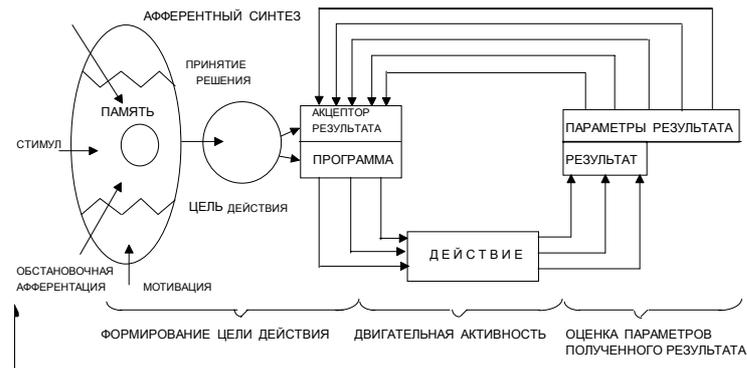


Рис.26. Последовательные стадии формирования функциональной системы элементарного поведенческого акта по Анохину П.К. [1968].

Согласно теории функциональных систем началу двигательной активности человека и животных всегда предшествует процесс формирования доминирующей мотивации и цели предстоящего действия. Конкретизацией последней является модель будущего результата (так называемый, акцептор результата действия - АРД) и неразрывно связанная с ним программа действия. Соответственно, после достижения полезного приспособительного результата процесс построения функциональной системы не заканчивается. Заключительной стадией является сличение параметров достигнутого результата с прогнозируемыми в АРД.

В рамках общей теории функциональных систем впервые удалось найти место принципиально различным детерминантам поведенческой активности: и тем, которые предшествуют её возникновению (пусковая и обстановочная афферентация, мотивация, память), и тем, которые являются следствием её реализации (полезный приспособительный результат). Это позволяет устранить временной парадокс, присущий модели Э.Торндайка.

И, наконец, включение в число ведущих детерминант поведения таких факторов как мотивация, эмоция, цель действия способствовало преодолению целого ряда противоречий, сохранявшихся в рамках физиологического и психологического подходов к описанию поведенческой реальности. При этом центральное положение концепции Торндайка-Скиннера - "закон эффекта" - не только сохраняется, но и приобретает качественно новое звучание. Теория функциональных систем не просто констатирует вывод о решающей роли результата ("эффекта") целенаправленной деятельности в построении процессов его достижения (рис.27). В ней даётся заключение об универсальности указанного принципа.

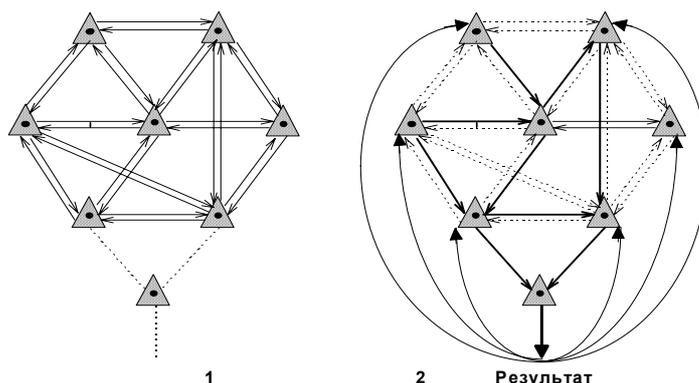


Рис.27. "Схема освобождения компонентов системы от избыточных степеней свободы: 1- хаотическое взаимодействие между компонентами системы на основе всех потенциальных степеней свободы; 2- взаимодействие в системе, упорядоченное на основе конечного полезного результата. **Результат освобождает систему от избыточных степеней свободы (пунктирные линии) и оставляет действующими только нужные для него степени свободы (сплошные линии)**" [П.К.Анохин, 1970 С.32] (выделено П.К.).

Согласно представлениям П.К.Анохина именно результат выступает в качестве императивного системообра-

зующего фактора, определяющего организацию активности любого живого существа, независимо от его возраста, пола или принадлежности тому или иному биологическому виду. Изоморфной является и внутренняя операциональная архитектура функциональных систем. В частности, началу процесса достижения приспособительного результата всегда предшествует стадия формирования его модели - цели предстоящего действия.

С этих позиций, поведенческий континуум любого биологического объекта, независимо от уровня сложности его структурно-функциональной организации, можно рассматривать как непрерывную последовательность актов ("системоквантов" [Боксер О., 1998]), идентичных по набору составляющих их основу системых механизмов [Анохин П.К., 1971; Судаков К., 1997].

Эволюция простейших функциональных систем

Когда впервые возникли подобные формы функциональной организации (рис.26; рис.27)? Начиная с какой стадии биогенеза взаимодействие живых существ с окружающей их средой стало строиться в соответствии с "законом эффекта"?

На первый взгляд, способность выполнять целенаправленные приспособительные действия, связанные с формированием модели будущего результата, с оценкой этапных и конечных результатов в процессе их последовательного достижения - характерны лишь для высших животных и человека. Более же простые биологические объекты не располагают достаточно развитым для этого набором психофизиологических механизмов.

Но можно ли в таком случае говорить об изоморфности внутренней операциональной архитектоники функциональных систем, принадлежащих разным уровням филогенетического развития? Если да, то что из себя представляет процесс формирования аппарата акцептора результатов действия (цели действия) на донервной стадии организации

живой материи? Существует ли, например, целевая форма детерминации физиологической активности растений? И т.п.

Этот же ряд вопросов можно поставить в более конкретной, скорее даже, в более категоричной форме. Поскольку универсальной структурно-функциональной единицей всего живого является клетка, существуют ли на клеточном уровне какие-то базовые процессы, построение которых подчиняется именно “закону эффекта”?

Репарация нуклеотидных макромолекул

Поиск ответа на этот вопрос неизбежно выводит на одну примечательную особенность структурно-функциональной организации молекул ДНК и их вероятных предшественников, которым принадлежит решающая роль в разворачивании основных процессов, протекающих внутри каждой живой клетки. Речь идет о способности этих молекул к самопочинке (“репарации”) в случае возникновения различных нарушений их целостности.

Наличие такого рода активности является основой существования любого нуклеотидного полимера, обладающего двухцепочечной структурой строения. Связано это с огромными размерами и относительно слабыми внутренними связями подобных макромолекул.

Наиболее часто здесь случаются апуринизация того или иного нуклеотида и дезаминирование оснований. В первом случае рвутся гликозидные связи между пурином (аденином или гуанином) и дезоксирибозой, в результате чего эти основания выбиваются из цепи ДНК. Второй случай - дезаминирование - приводит к образованию несвойственных для структуры ДНК соединений: вместо цитозина, аденина или гуанина появляются, соответственно: урацил, гипоксантин или ксантин.

Оба эти процесса носят спонтанный характер. За сутки в клетке человека апуринизация повторяется до 10000 раз, а частота дезаминирования составляет примерно 100 событий на полный геном.

Процесс, в рамках которого клетка устраняет подобные нарушения и называется репарацией (самопочинкой). Протекает она в несколько последовательных стадий. Сначала опознается вид возникшего повреждения. Эту функцию выполняет один или несколько белков. В последнем случае они объединяются в месте изъяна в особый комплекс. Затем поврежденный участок вырезается в ходе ферментативных реакций, после чего ДНК-полимераза синтезирует правильный кусок молекулы ДНК. Завершается процесс репарации сшиванием отдельных фрагментов цепи ДНК - лигазой.

Одно из центральных мест в реализации последовательности репарационных механизмов занимает процесс вырезания бракованного участка ДНК. Соответствующее основание удаляется, как правило, вместе со своим окружением в 2 - 10 нуклеотидов. Но в случае более крупных нарушений, например, при возникновении пиримидиновых димеров или других объемных образований, нарушающих структуру спирали ДНК, - удалению подвергаются части цепи длиной до 25 и даже 30 нуклеотидов. Конкретный размер вырезаемого куска зависит не только от типа самого повреждения, но и от соотношения имеющихся в клетке ДНК-полимераз. Именно эти ферменты застраивают бреши, образовавшиеся после вырезания аномального участка, используя для этого в качестве матрицы фрагмент противоположной цепи ДНК.

ДНК-полимеразы (у эукариот их известно около двух десятков) в первую очередь различаются по количеству нуклеотидов, которые они успевают встроить в растущую цепь за один акт связывания с дуплексом ДНК. Так, полимеразы β и λ присоединяют всего один нуклеотид. Две другие ДНК-полимеразы - δ и ϵ - способны создать большую вставку, но для этого им нужен дополнительный белок - PCNA. Особенно зависим от его присутствия первый фермент - без PCNA он почти сразу отрывается от ДНК, встроив лишь один нуклеотид. Если же PCNA удерживает на ней полимеразу δ , то синтез идет до тех пор, пока фрагмент не

достигнет нужной длины. Когда в клетке не хватает той или иной ДНК-полимеразы, репарация может переключаться с одной программы своей реализации на другие.

Установленный к настоящему времени комплекс репарационных процессов, конечно же, носит значительно более сложный характер, чем это описано выше. Но и сказанного вполне достаточно для того, чтобы сделать ряд наиболее важных для дальнейшего изложения выводов.

Итак, из известных сегодня фактов следует, что на уровне каждой клетки, независимо от её специализации, имеется особый молекулярно-биологический механизм, для которого характерен следующий ряд признаков:

1. Наличие спонтанного запуска. Даже в идеальных внешних условиях, при отсутствии вредоносных внешних воздействий, таких как, радиация или жесткое ультрафиолетовое излучение, периодически происходит самопроизвольное разрушение молекулы ДНК. Причина этого, как уже отмечалось, - слабость внутренних химических связей нуклеотидных полимеров, их постоянное балансирование на грани самораспада.

2. Возникновение определенного набора программ ликвидации возникшего разрушения. Выбор конкретного пути устранения дефекта ДНК определяется сочетанием множества различных факторов и заранее не может быть точно запланирован. Вопрос о выборе конкретной модели будущего молекулярно-биологического результата решается в ходе аналога афферентного синтеза с учетом имеющегося в распоряжении клетки на данный момент биохимического ресурса.

3. Сообразуясь с этим происходит частичная разборка участков ДНК, граничащих с зоной разрушения, т.е. формируется уже конкретная молекулярно-биологическая модель будущего результата (цель предстоящего репарационного действия, представленная в форме матрицы оголенного участка молекулы ДНК) (рис.28);

4. После этого начинается реализация намеченной программы с возможностью её коррекции в режиме "ex

tempo”;

5. Вслед за получением необходимого результата происходит его закрепление процессом сшивания (функция

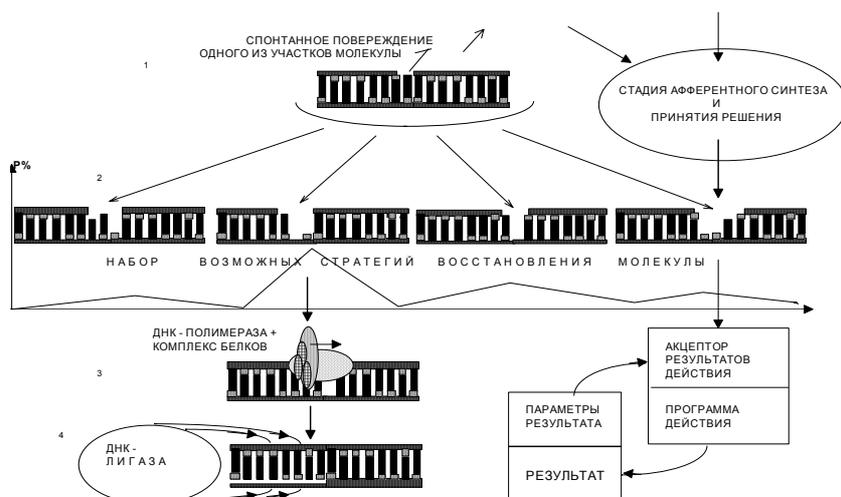


Рис.28. Особенности проявления “закона эффекта” в построении молекулярно-биологических процессов, связанных с репарацией нуклеотидных полимеров. 1- самопроизвольное разрушение одной из цепей молекулы ДНК; 2- набор потенциально возможных способов решения возникшей проблемы; 3- выбор и реализация наиболее вероятного сценария молекулярно-биологического действия; 4- достижение конечного результата, а именно, восстановление исходной структуры поврежденной макромолекулы.

ДНК-лигазы) в местах новообразованных контактов со “старыми” участками нуклеотидной цепи. После чего в ходе продвижения специальных белковых образований вдоль восстановленной молекулы реализуется аналог стадии сличения параметров достигнутого результата с прогнозируемыми в АД.

Нетрудно заметить, что перечисленный выше комплекс взаимосвязанных процессов полностью укладывает-

ся в рамки предложенной П.К.Анохиным схемы построения функциональной системы (рис.26). И, поскольку полезным приспособительным результатом в данном случае является выживание соответствующей макромолекулы, здесь с полным основанием можно говорить о прямом действии фактора эволюционного отбора.

Если выбранная стратегия восстановления молекулы ДНК оказывается не эффективной или даже просто не дающей быстрого эффекта, вероятность повреждения её “оголенного” участка резко возрастает. Возникновение же нарушения в этом случае приводит к необратимым изменениям ДНК (появлению мутации). Хотя, стоит отметить, что и здесь имеется определенный путь восстановления целостности. Но это, скорее, исключение, которое лишь подтверждает общее правило.

Репарационная активность как фактор биогенеза

Способность ДНК к самопочинке - не есть некое консервативное свойство, присущее этому типу макромолекул в неизменной форме с момента их возникновения. Сегодня уже не вызывает сомнений, что комплекс молекулярно-биологических механизмов, ответственных за реализацию этой функции, определяется некоторым набором признаков, передаваемых по наследству и находящихся в сфере влияния общего мутационного процесса. Это значит, что в ходе биогенеза в результате спонтанных нарушений двух цепочечной структуры ДНК неизбежно должны появляться особи, различающиеся между собой не только способностью адаптации к условиям среды обитания, но и степенью совершенства их внутренних механизмов репарации [Бобровников Л., 1996 б].

Это положение можно сформулировать и иным образом, а именно, даже идентичные по набору адаптационных свойств клеточные образования обладают разным потенциалом выживаемости в зависимости от степени развития их способности противостоять процессам саморазрушения.

Преимущества в сохранении и передаче наследуемых признаков, естественно, имеют те биологические объекты, которые при прочих равных условиях являются носителями более совершенных инструментов репарации.

В свете этих представлений, каждое новое (вызванное мутацией) структурно-функциональное приобретение клетки, даже исключительно удачное по критерию его соответствия внешним условиям, все равно подвергалось в ходе эволюционного развития элиминации, если оно несло в себе какие-либо признаки, затрудняющие развертывание механизмов самопочинки. Преимущества же в выживании и передаче наследуемых признаков получали организмы, обладающие, помимо всего прочего, и более совершенными "инструментами" репарационной активности, т.е. имеющие более развитые механизмы устранения самопроизвольно возникающих нарушений постоянства их внутренней среды

Особенностью организации этих механизмов является не только их универсальность, распространимость на всевозможные клеточные образования, но и постоянная внутренняя тенденция к саморазвитию. Даже в идеальных внешних условиях все равно происходит закрепление и тиражирование в последующих поколениях вызванных мутацией признаков, приобретение которых облегчает реализацию репарационных внутриклеточных процессов. И, наоборот, появление любого нового свойства, затрудняющего построение последних, неизбежно приводит к гибели соответствующего клеточного образования, его вытеснению обладателями более совершенных механизмов репарации.

Таким образом, рассматривая репарационную активность как общее свойство всего живого, нельзя не учитывать следующий принципиально важный момент. Поддержание стабильности ДНК за счет специальных механизмов самовосстановления неизбежно приводит к тому, что вопрос о выживании любой клетки начинает решаться не только на уровне её взаимодействия с окружающей средой, но и, так сказать, в сфере внутренней борьбы за существо-

вание. О напряженном характере последней можно судить хотя бы по тому факту, что частота самопроизвольно возникающих поломок любой молекулы ДНК составляет несколько раз в секунду.

Это значит, что помимо трех хрестоматийных факторов элиминации (неблагоприятные внешние воздействия, межвидовая и внутривидовая борьба за существование [Дарвин Ч., 1935]), есть ещё один. Связан он с процессом самораспада макромолекул ДНК, которым принадлежит решающая роль не только в передаче наследственной информации, но и в построении всех основных внутриклеточных процессов.

Особый статус механизма репарации в отношении других передаваемых по наследству признаков обусловлен ещё и тем обстоятельством, что его действие распространяется на все без исключения участки молекулы ДНК, которые кодируют по сути дела весь гентип. И в этом также проявляется исключительная - интегрирующая функция данного свойства.

В рамках такого подхода практически любую специализированную клеточную функцию, в частности, способность к быстрому изменению уровня трансмембранного потенциала, можно с полным основанием рассматривать как полезное свойство, которое, сформировавшись еще на стадии эволюции одноклеточных организмов [Eckert R., Naiton Y., 1970; Sheperd G., 1981], прошло длительные периоды естественного отбора по критерию своего соответствия как внешним, так и определенным внутренним факторам, оказавшись в итоге, неразрывно связанным с реализацией всего комплекса механизмов внутриклеточной саморегуляции.

Анализируя структуру сложившихся в результате функциональных соотношений, принципиально важно учитывать, что единицей естественного отбора при этом выступал не отдельный признак и даже не их сумма, а именно организм как целое [Шмальгаузен И., 1982], т.е. не только совокупность соответствующих признаков, но и фак-

тор гармоничности их интеграции, параметр пропорциональности представительства всех составляющих фенотипа по отношению друг к другу. Особо следует подчеркнуть, что последующий переход к этапу эволюции многоклеточных организмов уже не мог сопровождаться кардинальной дезорганизацией сложного комплекса сформировавшихся перед этим внутренних функциональных взаимосвязей [Дубинин Н., 1983].

Резюме

Подводя итог вышесказанному, хотелось бы выделить следующий ряд наиболее важных моментов.

1. Уже на самых ранних стадиях биогенеза возникла особая, нереакционная схема организации адаптационной активности живых существ. Решающая роль в её построении принадлежит определенным факторам, которые выступают в качестве будущих по отношению к соответствующему действию событий (результат поведения, его эффект).

2. Возникновение этого общебиологического свойства не просто относится к самым ранним этапам биогенеза. Оно сформировалось ещё на предбиологических этапах эволюционного развития и своим появлением предопределило сам переход от химической стадии эволюции к биологическому её этапу.

3. Выступая в дальнейшем в качестве императива процесса эволюционного отбора, механизм оперантной детерминации стал одним из ведущих функциональных признаков проявления жизни во всех её формах.

4. Необходимым условием реализации указанного свойства являются:

- наличие спонтанной активности
- наличие спонтанной вариативности спонтанной активности (набор паттернов)
- наличие биологически значимых воздействий, закономерно совпадающих по времени с заключительным этапом реализации одного определенного паттерна** активности из всего их набора.

Универсальный характер этого функционального

принципа неизбежно приводит к выводу о том, что он в какой-то форме непременно должен проявляться и на уровне активности отдельной нервной клетки. Ясно также и то, что указанная схема не может быть реализована в рамках процесса генерации одиночного потенциала действия, длительность и амплитуда которого все время остаются неизменными. Т.е. образование набора паттернов активности на уровне отдельного спайка не возможно в принципе. Схема оперантной детерминации для нейронов реализуема только применительно к определенным временным последовательностям биоэлектрических разрядов. В качестве фактора положительного подкрепления при этом должны выступать воздействия, биологически значимые именно для данного нейрона. Например, градуально нарастающая концентрация метаболически ценных субстратов в немедиаторной компоненте поступающего от других нервных клеток синаптического притока.

Если этот процесс реализуется в ходе построения определенной функциональной системы организменного уровня, последовательность событий можно изобразить в виде следующей схемы (рис.29).

При рассмотрении в рамках такого подхода динамики нейронной активности особого внимания заслуживает ряд явлений, происходящих не перед началом или во время генерации потенциалов действия, а после его окончания (“закон эффекта”). Соответственно, когда речь идет о больших группах согласованно работающих нервных клеток, в качестве ведущих детерминант их системной активности начинают выступать определенные результаты организменного уровня.

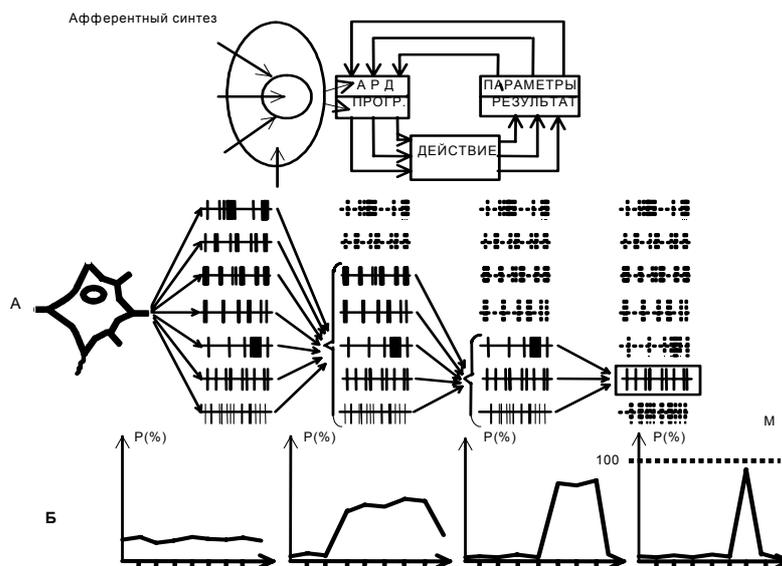


Рис.29.

Гипотетическая модель формирования определенного паттерна разрядной активности нервной клетки на основе процесса оперантной детерминации.

** Прим. Говоря о **паттерне**, мы придерживаемся следующего определения: "понятие "паттерн" подразумевает любую последовательность явлений во времени или любое расположение предметов в пространстве, которые можно отличить от другой последовательности или другого расположения или сравнить с ними". [Уолтер Г., 1966, С.76].

Глава 3

Особенности проявления “закона эффекта” в организации сложных нейронных систем

Рассмотренные выше соображения позволяют сформулировать задачу уже конкретного экспериментального исследования, проведение которого даёт возможность получить определенный ответ на вопрос о значении “закона эффекта” в организации элементарных нейрофизиологических функций.

Наиболее интересные в этом плане данные могут быть установлены в рамках сравнительного анализа разрядной активности одной и той же группы нервных клеток, последовательно регистрируемых в ходе развертывания идентичных целенаправленных действий, завершающихся достижением кардинально различных приспособительных результатов, например, получением пищи и устранением сильного болевого раздражения. В этом случае возникает возможность в рамках простой однофакторной схемы анализа установить различные формы влияния будущего события (“эффекта” инструментального действия) на построение элементарных нейрофизиологических процессов, предопределяющих его появление.

Методика

Для решения поставленной задачи была разработана специальная экспериментальная модель, в рамках которой подопытные животные (кролики) во время регистрации у них активности отдельных нервных клеток были обучены выполнять нажатие передними лапами на площадку специальной педали для получения пищи и устранения по звуковому сигналу болевого электрокожного раздражения (ЭКР) [Бобровников Л.В., 1982а]. Наличие высокого уровня оборонительной мотивации в последнем случае подтверждается результатами электрокардиографического анализа [Бобровников Л.В., Чан Куанг Тин, 1986].

Импульсная активность отдельных нейронов отводилась экстраклеточным способом у животных с выработанным и закрепленным инструментальным поведением. На магнитофон марки "Брюль и Къер-7003" регистрировались: разрядная активность нейрона, звуковой оборонительный сигнал, электрокожное раздражение, отметки нажатия на педаль и взятия пищи из кормушки, актограмма перемещений животного по экспериментальной камере. Дополнительно по специальной методике [Basmajian I., Stecko G., 1962] осуществлялась регистрация электромиограммы глубокой части собственно жевательных мышц. После окончания опыта магнитную запись воспроизводили с редукцией скорости в 10 раз на чернилопишущий прибор.

Объектом изучения были нейроны сенсомоторной области коры головного мозга. Координаты места трепанации кости черепа - А3, L3; Р3, L3.

Анализ полученных результатов проводился в три этапа. На первом из них с помощью применяемой системы поведенческих отметок на нейронограмме выделяли интервалы времени, соответствующие периодам реализации отдельных инструментальных актов. Для каждого такого периода определяли следующие параметры разрядной деятельности регистрируемого в данный момент нейрона: среднюю частоту его импульсации, структуру фазных активаций (т.е. тип поведенческой специализации клетки) и модальность гистограмм распределения межспайковых интервалов. В последнем случае для нейронов, имеющих низкий уровень разрядной активности, построение интервальных гистограмм проводилось путем объединения данных по нескольким (3-5) "смежным" инструментальным актам.

Основной этап обработки полученных данных включал в себя сопоставление показателей средней частоты, специализации и интервальных характеристик одного и того же нейрона в пищедобывательных и оборонительных инструментальных актах. Затем, на основе известных методов регрессионного анализа выясняли, существуют ли направ-

ленные изменения перечисленных выше показателей в ходе постепенного снижения уровня мотивации голода по мере насыщения животного. Пищедобывательные и оборонительные действия рассматривались при этом независимо друг от друга. Достоверность полученных данных оценивали по критерию Стьюдента (уровень значимости $p < 0,05$).

Сравнительный анализ поведенческой специализации нервных клеток

В общей сложности была исследована разрядная активность 134 нейронов сенсомоторной области коры головного мозга.

Первое, что обращает на себя внимание при рассмотрении полученных данных, - наличие у значительного числа зарегистрированных клеток (49%) закономерно повторяющихся от акта к акту однонаправленных изменений текущей частоты импульсации, приуроченных к строго определенным этапам инструментального действия.

Как известно, это явление (феномен поведенческой специализации нейронов) констатируется в выводах большинства микроэлектродных исследований, проводимых на свободноподвижных животных. При этом отмечается очень высокий уровень стабильности подобных функциональных перестроек [Горкин А., Шевченко Д., 1990; Александров Ю., и др., 1989; 2002].

Стабильность феномена поведенческой специализации нейронов отчетливо проявлялась и в рассматриваемом нами случае. Более того, возможность анализировать разрядную активность одной и той же нервной клетки в условиях многократного перехода от пищедобывательного поведения к оборонительному позволяет сделать вывод не только о стабильности, но и об очень быстром и полном восстановлении всей структуры поведенческой специализации нейронов после каждой очередной смены приспособительной направленности инструментального акта. Нам ни разу не удалось наблюдать каких-либо проявлений частичного или хотя бы даже постепенного восстановления пат-

терна нейронной активности в период возобновления пищедобывательных действий после их прерывания поведением оборонительного характера. Несомненный интерес представляет и тот факт, что фазные изменения частоты импульсации отмечались у изученной нами группы сенсомоторных нейронов именно на стадии реализации приспособительных действий. Ни у одной из этих клеток не удалось зарегистрировать активаций или торможений в ответ на включение звукового оборонительного сигнала или в момент прекращения исходного пищедобывательного поведения.

Вместе с тем, было установлено, что результат поведенческого акта (его "эффект") выступает в качестве важного фактора, определяющего структуру специализации нервных клеток. Об этом свидетельствуют данные сравнительного анализа нейронной активности в сходных по своим параметрам пищедобывательных и оборонительных инструментальных действиях.

Основные результаты такого анализа приведены на рис.30. Каждая из семи представленных здесь векторных диаграмм отражает разрядную активность одновременно 66 нейронов, у которых на определенных этапах пищедобывательного (А) и/или оборонительного (Б) инструментального поведения имели место статистически достоверные ($p < 0,05$) изменения частоты импульсации. Номер вектора на всех диаграммах соответствует индексу одной и той же нервной клетки. Окружность меньшего диаметра условно отражает средний уровень "фоновой" разрядной деятельности нейронов (для разных клеток он, естественно, был различен). Возрастание или, наоборот, снижение частоты генерации потенциалов действия на определенном этапе инструментального акта выражается в сдвигах по определенной оси в сторону от центра (активация) или к центру (торможение).

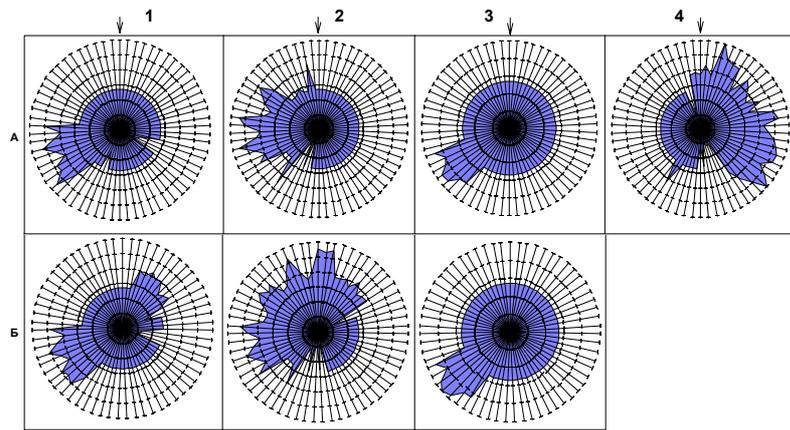


Рис.30. Динамика изменения разрядной активности нервных клеток на последовательных этапах реализации пищедобывательного (А) и оборонительного (Б) инструментального поведения. 1- движение к педали; 2- нажатие на педаль; 3- движение от педали; 4- взятие пищи и жевание. Определенный вектор на каждой из диаграмм отражает величину средней частоты импульсации одного и того же нейрона в различных поведенческих ситуациях. Пояснение – в тексте.

Поскольку амплитуда таких изменений у разных нейронов варьировала в довольно широких пределах, соответствующие величины откладывались по осям в логарифмическом масштабе.

Представленные на рис.30 данные свидетельствуют о том, что нейрональное обеспечение идентичных по способу достижения результата пищедобывательных и оборонительных инструментальных актов было различным. Паттерн импульсации 57% фазно-активных нервных клеток менялся при изменении цели поведения.

У 9 нейронов было выявлено статистически достоверное повышение частоты разрядов только в пищедобывательных актах ($p < 0,05$). В оборонительном поведении импульсная активность у них либо вообще отсутствовала, ли-

бо носила регулярный характер. У 3 других клеток наблюдалась фазная активность исключительно в рамках инструментальной оборонительной деятельности. Особо выделялась группа из 42 нейронов, которые избирательно активировались во время развертывания как пищедобывательного, так и оборонительного поведения. Фазные активации 23 из них были связаны с одними и теми же этапами реализации акта нажатия на педаль независимо от его мотивационной основы. Пример одной из таких клеток представлен на рис.31.

Паттерн разрядной активности других 19 нейронов был различен в пищедобывательных и оборонительных инструментальных действиях, но на разных этапах их реализации такого рода различия проявлялись в разной мере. Если во время движения животного к педали и кормушке, как правило, имели место однонаправленные изменения импульсации в пищедобывательном и оборонительном поведении, то в период нажатия животным на педаль такой однонаправленности уже не наблюдалось.

Например, на рис.32 представлен нейрон, активность которого характеризовалась наличием только одной фазы активации в рамках инструментального акта во время реализации как оборонительного, так и пищедобывательного поведения. Однако её возникновение было приурочено к разным моментам.

В оборонительном поведении (А) резкое возрастание частоты разрядов данной клетки от $0,5 \pm 0,22$ имп/сек до $4,2 \pm 0,73$ имп/сек наблюдалось за 500 мс до момента нажатия животного на педаль. В пищедобывательных же актах такая активация отсутствовала. Частота разрядов в этом случае составляла $1,5 \pm 1,3$ имп/сек до нажатия и $1,0 \pm 0,5$ имп/сек после. Вместе с тем, отмечалось возрастание частоты импульсации с $0,4 \pm 0,22$ имп/с до $3,5 \pm 0,68$ имп/с.

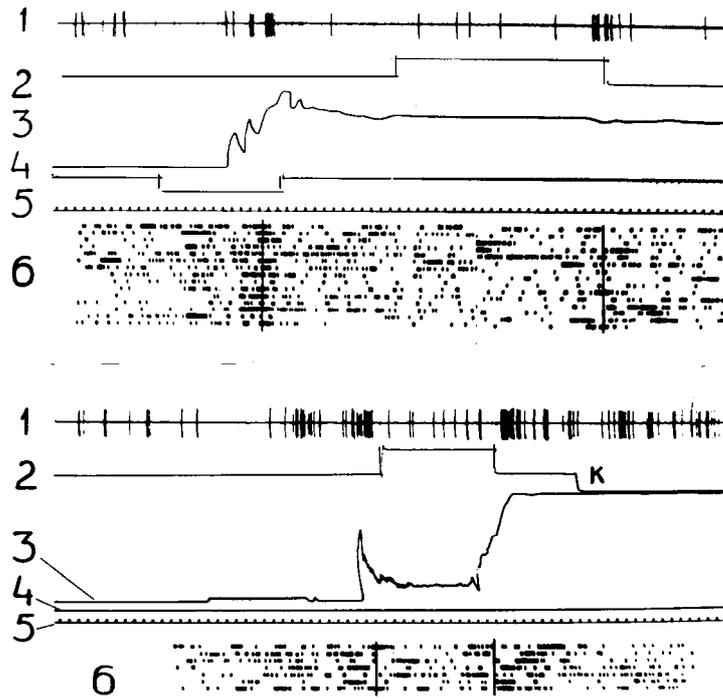


Рис.31. Сходные фазные активации сенсомоторного нейрона в оборонительном (сверху) и пищедобывательном (внизу) инструментальном поведении животного. 1- нейронограмма; 2- отметка нажатия на педаль (отклонение кривой вверх) и взятия пищи из кормушки (вниз); 3- актограмма перемещений животного по камере (вверх - к кормушке, вниз - к педали); 4- отметка звукового сигнала (отклонение кривой вниз); 5 - отметка времени 100 мс; 6- растры разрядной активности нейрона построены от момента нажатия (слева) и момента отпускания (справа) педали.

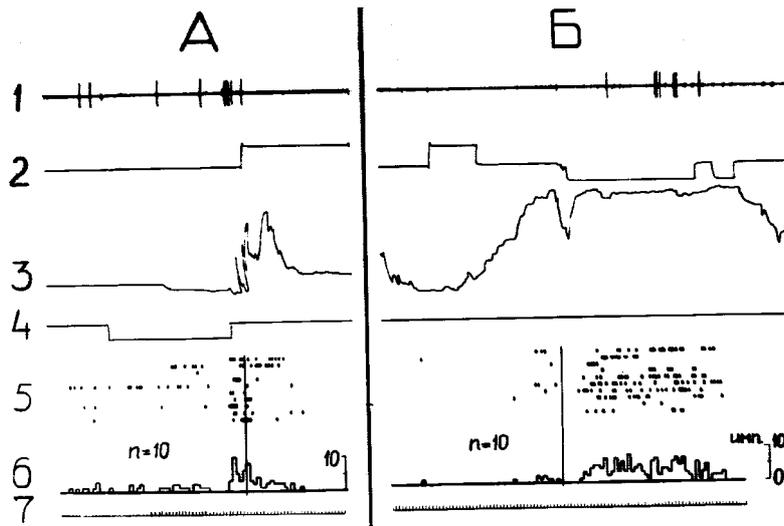


Рис.32. Различный характер фазной активности нейрона в оборонительных (А) и пищедобывательных (Б) инструментальных актах, идентичных по способу достижения результата. 1 - 4 - обозначения как на рис.31; 5 - растры и 6 - гистограммы импульсной активности нейрона, построенные от момента нажатия на педаль (А) и от момента опускания животным морды в кормушку (Б). Ширина канала на гистограмме - 100 мс; 7- отметка времени 100 мс.

Следует отметить, что у 3 нейронов этой группы на стадии реализации пищедобывательного поведения наблюдалось несколько фаз избирательных активаций. Причем, только одна из них соответствовала аналогичному моменту инструментального оборонительного акта.

Необходимо особо подчеркнуть, что в рамках каждой из двух сравниваемых форм инструментального поведения амплитуда фазных нейронных активаций или торможений (т.е. величина изменения частоты импульсации по отношению к "фону") существенно варьировала. Нельзя было вы-

делить и двух пищедобывательных или оборонительных актов, нейрональное обеспечение которых по этому критерию было бы полностью идентичным. Причем, проведенный корреляционный анализ показал, что степень выраженности фазных перестроек нейронной активности не зависит от двигательных параметров инструментального действия, в частности от продолжительности различных его этапов, количества и длительности нажатий животным на педаль и т.д. Величина коэффициентов корреляции практически во всех случаях имела значения, которые не достигали критериального уровня $p < 0,05$.

Кроме того, было установлено, что по мере насыщения животного и, как следствие, снижения уровня пищевой потребности амплитуда активаций (или торможений) нервных клеток также статистически достоверно не меняется. Ни в одном случае нам не удалось выявить корреляционной зависимости между величиной изменения частоты нейронной импульсации на соответствующем этапе поведения и количеством съеденных кроликом порций пищи. Даже в тех случаях, когда длительная регистрация одной и той же нервной клетки сопровождалась плавным возрастанием интенсивности разрядной деятельности (5 нейронов) или, наоборот, ее снижением (4 нейрона), величина фазных изменений частоты импульсации оставалась в пределах статистической погрешности. В ряде случаев импульсную активность нейронов удавалось наблюдать не только в стереотипном инструментальном поведении, но и во время реализации "ошибочных" (межсигнальных) реакциях избегания, когда пусковой стимул отсутствовал. Такие оборонительные действия отличались от "обычных" инструментальных актов, прежде всего тем, что их выполнение происходит в отсутствие непрерывного звукового тона 800 гц.

Сравнительный анализ активности 9 нейронов, которые были зарегистрированы в такой ситуации, показал, что паттерн каждого из них в нормальных оборонительных актах был в точности таким же, как и в "ошибочных".

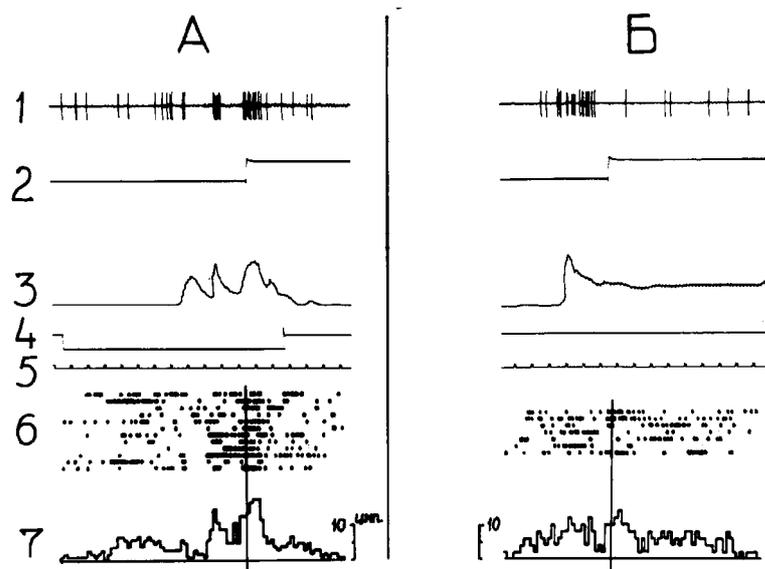


Рис.33. Активность нейрона сенсомоторной области коры мозга в оборонительном (А) и пищедобывательном (Б) инструментальном поведении. Обозначения как на рис.31. Растр и гистограммы (ширина канала 20 мс) нейронной активности построены от момента нажатия животного на педаль.

Например, у нейрона, представленного на рис.33., наблюдалось характерное увеличение частоты разрядов во время реализации инструментальных оборонительных актов с $0,4 \pm 0,1$ имп/с до $5,4 \pm 0,6$ имп/с. Сходные перестройки отмечались и в пищедобывательном поведении (рис.33 Б) и во время реализации межсигнальных оборонительных нажатий на педаль (рис.34).

Это обстоятельство заслуживает особого внимания ещё и потому, что достижение приспособительного результата (устранение или предотвращение болевого раздражения) в нашем случае совпадало по времени с моментом выключения звукового сигнала.

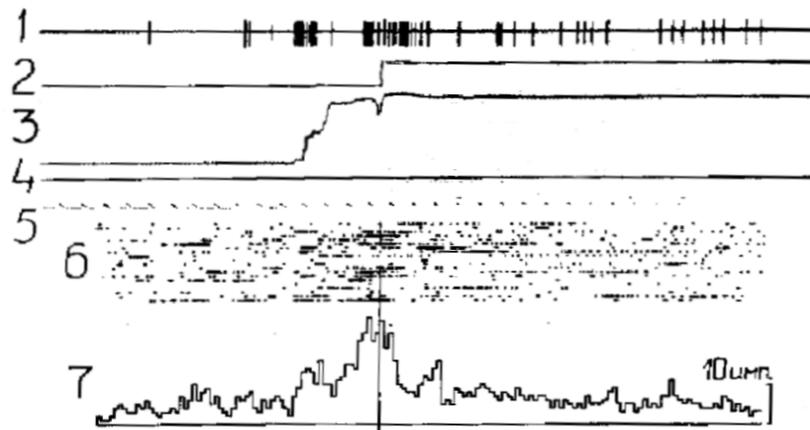


Рис.34. Возрастание частоты разрядной активности нейрона, представленного на рис.33, во время межсигнальных оборонительных нажатий животного на педаль. Обозначения как на рис.31. Растры и гистограмма (ширина канала 20 мс) построены от момента нажатия на педаль.

В таких случаях группу нейронов off- типа [Hubel D., Wiesel T., 1959] можно было бы ошибочно отнести к разряду клеток, которые функционально связаны с моментом достижения животным результата. Тем более, что в работах ряда авторов доказан факт реорганизации разрядной деятельности многих сенсомоторных нейронов в ответ на предъявление звуковых сигналов [Irvine D., Huebner H., 1979].

В целом, результаты проведенных нами экспериментальных исследований определенно свидетельствуют о том, что в условиях, близких к естественным, характерным проявлением специфичности работы нервных клеток является определенная структура их поведенческой специализации, которая существенным образом меняется при смене характера приспособительной направленности инструментальных действий.

Паттерны реальные и мнимые

Совершенно иная картина складывается, если попытаться оценить динамику тех же самых системных процессов без учета фактора поведенческой специализации нейронов, а основываясь лишь на анализе их интервальных характеристик. Рассмотрение этого вопроса заслуживает особого внимания в связи с активно разрабатываемыми в последние годы представлениями о существовании специфических нейронных кодов мотивационного возбуждения [Журавлев Б., 1986 и др.].

Как показывает проведенный нами анализ, лишь у 14% сенсомоторных нейронов синхронно возникают характерные пачечно-групповые конфигурации биоэлектрических разрядов. Для большинства же клеток (84%) вообще не удается установить наличие каких бы то ни было общих интервальных показателей, свидетельствующих о согласованном характере их разрядной деятельности. По сути дела здесь приходится говорить о соотношении: один нейрон - один паттерн.

Но даже для первой группы клеток (14% нейронов) синхронное возникновение пачечно-групповой формы импульсной активности, как выяснилось, не связано с процессом формирования мотивации голода, а обусловлено особенностями их поведенческой специализации. Оказалось, что все они относятся к числу "нейронов жевания" (рис.35). В пользу этого заключения свидетельствует строгая корреляция их разрядной деятельности с определенной фазой жевательных движений. Кроме того, по мере насыщения животного у данной группы клеток ни разу не отмечалось постепенного снижения степени выраженности феномена "пачкообразной" ритмики при жевании. Между тем, отдельные нейроны нам удавалось регистрировать непрерывно в течение нескольких часов во время неоднократно воспроизводимых ситуаций удовлетворения пищевой потребности и ее повторного возникновения.

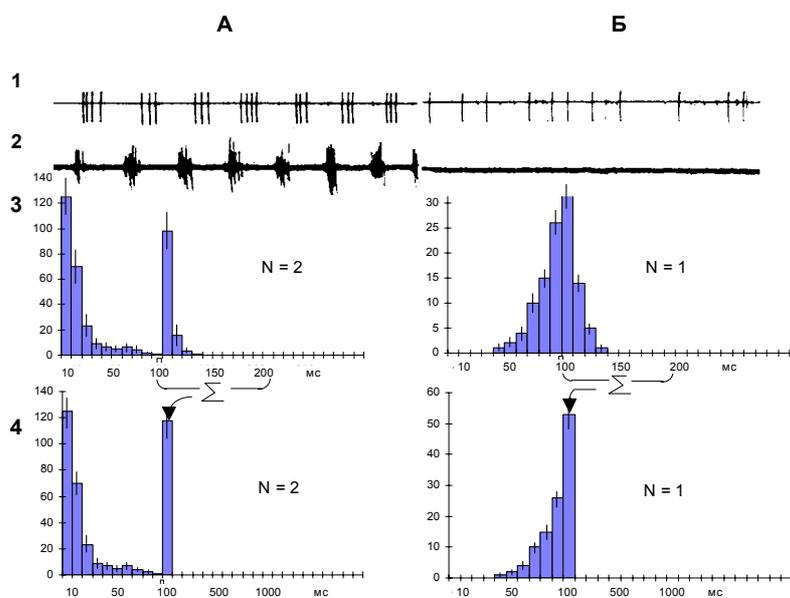


Рис.35. Завершение процесса жевания проявляется в активности нейронов как переход от пачечно-групповой формы их импульсации (А) к регулярной (Б). 1- нейрограмма; 2- миограмма жевательных мышц; ниже - интервальные гистограммы с равномерной (3) и неравномерной (4) шкалой времени. N - число экстремумов ("модальность") соответствующих распределений.

Если в свете этих данных вновь обратиться к примеру, представленному на рис.35, нетрудно понять, что в рамках простых экспериментальных моделей, когда наличие мотивации голода и факт ее удовлетворения могут быть объективно определены только по критерию поедания животным пищи или отказу от нее, "нейроны жевания" неизбежно будут ошибочно идентифицированы как нейроны соответствующего мотивационного возбуждения.

А поскольку число таких клеток значительно больше (свыше 90% [Александров Ю.,1989]) в некоторых централь-

ных структурах мозга, очень легко сделать и другой ошибочный вывод - вывод о существовании градуального распределения нейронов пищевой мотивации по различным отделам ЦНС [Журавлев Б., 1986].

Чем можно объяснить столь разительное расхождение данных, полученных в наших экспериментах и в опытах других авторов?

Как ни странно, но получить ответ на поставленный вопрос достаточно просто. Необходимо просто более внимательно посмотреть на одну весьма характерную особенность работ, в которых констатируется вывод о наличии определенного мотивационно-детерминированного паттерна импульсации нейронов. Дело в том, что во всех исследованиях, посвященных решению этой проблемы, соответствующие заключения основывались на результатах анализа интервальных гистограмм, построенных в системе координат с неравномерной шкалой времени. Ширина канала составляла 10 мс (для интервалов от 0 до 100 мс) и 100 мс (для интервалов в области 100-1000 мс).

Утверждалось, что возникновение пищевой [Безуглый А., 1993; Борисова Е., 1983; Тимошин Д., 1991], питьевой [Котов А., 1986] оборонительной [Муртазина Е., 1993; Сулин В., 1993], ряда других мотиваций [Бадиков В., 1986; Мещеряков А., 1981] сопровождается массовым переходом нервных клеток от регулярной формы разрядной активности к характерному пачечно-групповому типу импульсации. В качестве критерия доминирования "пачкообразной" ритмики рассматривалось наличие двух экстремумов ("бимодальность") соответствующих интервальных гистограмм.

Нетрудно понять, что использование подобного методического приема на самом деле полностью исключает возможность объективного решения поставленной задачи. В этом можно убедиться на следующем простом примере. На рис.36А представлена нейронограмма, распределение межспайковых интервалов которой аппроксимируется классической мономодальной кривой (А 2). Ниже - та же самая гистограмма, но построенная уже в системе координат с

неравномерной шкалой времени (АЗ).

Сравнивая эти графики нетрудно заметить, что до момента изменения масштаба оси абсцисс они в точности повторяют друг друга.

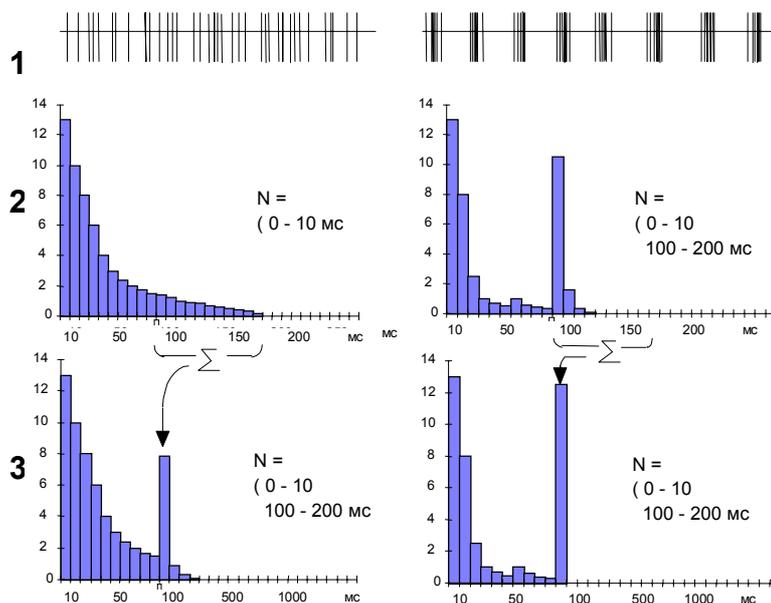


Рис.36. Идентичность показателей модальности интервальных гистограмм с регулярной (А) и пачечной (Б) формой активности (в системах координат с неравно-мерной шкалой времени). По оси абсцисс - длительность интервалов. По оси ординат - их количество. N - число экстремумов на графике (в скобках - моменты их возникновения).

Однако, начиная со 100 мсек такое соответствие нарушается. Каждому очередному каналу гистограммы АЗ начинает соответствовать суммарное "содержимое" десяти

каналов исходного распределения (A2). В результате образуется второй (фантомный) пик в области 100-200 мс, и нейрон с четко выраженной регулярной формой активности начинает ошибочно идентифицироваться как клетка пачечно-группового типа.

Проделав аналогичное преобразование для нейронов, действительно обладающих "пачкообразной" конфигурацией биоэлектрических разрядов (рис.36Б), и сопоставив полученные графики, приходится признать, что в системах координат с неравномерной шкалой времени переход от регулярного типа импульсации (рис.36 А3) к пачечно-групповой (рис.36 Б3) не поддается объективизации по критерию модальности интервальных гистограмм. На первый взгляд, не понятно, каким образом здесь вообще удается получать какие-либо мономодальные распределения.

Ответ дает следующий простой пример. На рис.37 представлены интервальные гистограммы нейрона, обладающего регулярной формой разрядной активности, но имеющего различную интенсивность импульсации в разные периоды времени. Хорошо видно, что если средняя величина межспайковых интервалов находится в пределах 100-200 мс, соответствующее распределение сохраняет свой мономодальный вид и после преобразования (Б2—>Б3). Но при этом оказывается, что в системе координат с неравномерной шкалой времени в зависимости от средней частоты импульсной активности один и тот же регулярный нейрон может быть идентифицирован как клетка и "пачечно-группового" (рис.37 А), и регулярного (рис.37 Б) типа.

Подводя определенный итог вышесказанному, приходится констатировать, что результаты проведенных к настоящему времени исследований не позволяют сделать вывод о существовании каких-либо специфических нейрональных кодов, отражающих на клеточном уровне процесс формирования мотивационного возбуждения. На основе применяемой авторами процедуры первичной обработки данных в принципе невозможно провести объективное разделение всей совокупности регистрируемых нервных клеток

на нейроны с регулярной и пачечно-групповой формой импульсной активности.

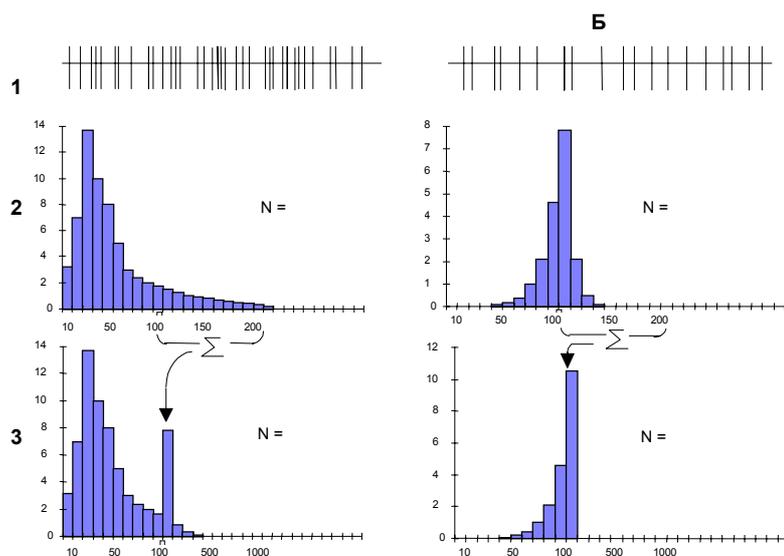


Рис.37. В системе координат с неравномерной шкалой времени простое снижение средней частоты регулярной нейронной активности начинает выглядеть как характерный переход от бимодального распределения (А) его межспайковых интервалов (“пачки”) к мономодальному (Б) (“регулярность”). Обозначения как на рис.36.

Этот вывод, естественно, распространяется и на утверждение о наличии особого, мотивационно-детерминированного распределения по отделам головного мозга нейронов с характерной пачкообразной ритмикой (90% - латеральный гипоталамус, 60% - сенсомоторная кора, 45% - зрительная область коры и т.п.) [Журавлев Б., 1986]. На самом деле, даже если число таких клеток будет равно нулю, наличие феномена бимодальности интервальных гистограмм все равно вполне может отмечаться в тех

же самых пропорциях (рис.36 А).

Кроме того, особенностью проведенных в данном направлении исследований, помимо всего прочего, является отсутствие в них традиционных разделов, посвященных оценке достоверности получаемых результатов на основе известных методов аналитической (индуктивной) статистики. Ни в одной из многочисленных статей, монографий, диссертационных работ нельзя найти каких-либо математических выкладок (или, хотя бы, доверительных интервалов на гистограммах), которые давали бы надежду другим исследователям полагать, что, повторив применяемую авторами последовательность экспериментальных процедур, они также с достаточно высокой вероятностью будут наблюдать именно описываемый ряд закономерностей. По этой причине говорить о существовании каких-либо достоверных различий в паттернах нейронной активности, соответствующих разным биологическим мотивациям на сегодняшний день не представляется возможным.

Резюме

1. Основной формой проявления специфичности работы нейронов головного мозга в поведении является определенная структура их системной специализации, которая существенным образом меняется при изменении характера приспособительной направленности инструментальных действий.

2. В период развертывания целенаправленного инструментального поведения доминирующая мотивация не играет роль императивного фактора, способного оказывать прямое влияние на процесс формирования разрядной активности отдельных нервных клеток.

3. Отмечаемый в работах ряда авторов феномен “пачкообразной” (мотивационно-детерминированной) формы нейронной импульсации на самом деле является артефактом первичной обработки данных и возникает вследствие необоснованного применения системы координат с неравномерной шкалой времени при проведении соответст-

вующих оценок.

4. Даже на уровне нейронов сенсомоторной области коры, которая до сих пор ещё рассматривается многими авторами как зона проекции мышечных афферентов, построение нейронной активности подчиняется императиву результата поведенческого акта. В зависимости от “эффекта” инструментального целенаправленного действия организация множественной нейронной активности оказывается существенно различной.

5. Нейрональную основу пиццедобывательных и оборонительных инструментальных действий составляют хотя и разные, но “перекрывающиеся” совокупности нервных клеток, т.е. несмотря на разную мотивационную основу сравниваемых актов определенная часть нейронов, может включаться в реализацию системных процессов качественно различной биологической направленности.

6. Нейрональное обеспечение межсигнальных (неэффективных) инструментальных действий незначительно отличается от обеспечения эффективного поведения, что указывает на эндогенный характер формирования соответствующих нейронных интеграций.

Глава 4

Динамика нейронной активности в условиях формирования нового поведенческого акта*

Рассматривая “закон эффекта” в качестве универсального принципа построения поведенческой активности человека и животных, важно учитывать его тесную взаимосвязь с другим основным положением теории оперантного обусловливания - принципом селекционизма [Donahoe J. et al., 1999]. Согласно развиваемым представлениям детерминирующая функция любого результата (“эффекта”) реализуется не вследствие его влияния на конкретно формирующийся поведенческий акт, а всегда через процесс реорганизации всего поведенческого континуума. И это понятно. Ведь, повышение частоты последующих воспроизведений подкрепляемого действия автоматически сопровождается снижением вероятности реализации всех других (не подкрепляемых) актов, каждый из которых неизбежно оказывается в зоне влияния результата “чужого” для него действия.

В этом состоит еще одно важное отличие концепции оперантного обусловливания от других физиологических теорий поведения. Согласно представлениям Скинера формирование нового акта не сводится к его добавлению в арсенал уже существующих приспособительных средств. Этот процесс всегда связан с реорганизацией всего поведенческого репертуара, выступающего в качестве общего поля, на котором результаты различных актов на конкурентной основе реализуют свое влияние на всю совокупность возможных форм поведенческой активности данного организма.

Пользуясь компьютерными аналогиями, можно сказать, что добавление в поведенческий репертуар человека

** Представленные в этом разделе работы данные были получены в экспериментах, проведенных совместно с Ю.А.Фадеевым, Н.А.Швырковой и В.Ф.Волковым.*

и животных любого нового действия всегда сопровождается процессом полной “перезагрузки” всей системы потенциально возможных форм поведения.

Один из наиболее известных вариантов нейрофизиологической трактовки этих представлений был сформулирован В.Б.Швырковым [1985; 1995] в рамках геномноселекционной модели. Отдельные положения этой теории и сегодня остаются предметом острых дискуссий. Но не вызывает никаких сомнений, что предложенная Э.Торндайком схема (см. рис.25) действительно может быть расшифрована через набор паттернов системоспецифичных нейронов, которые “стоят” за соответствующими поведенческими актами и являются их устойчивой нейрофизиологической характеристикой (рис.38).

В плане экспериментальной проверки этих представлений нами была проведена серия исследований, связанных с анализом динамики нейронной активности в условиях формирования нового инструментального пищедобывательного действия. Точнее говоря, рассматривалась ситуа-

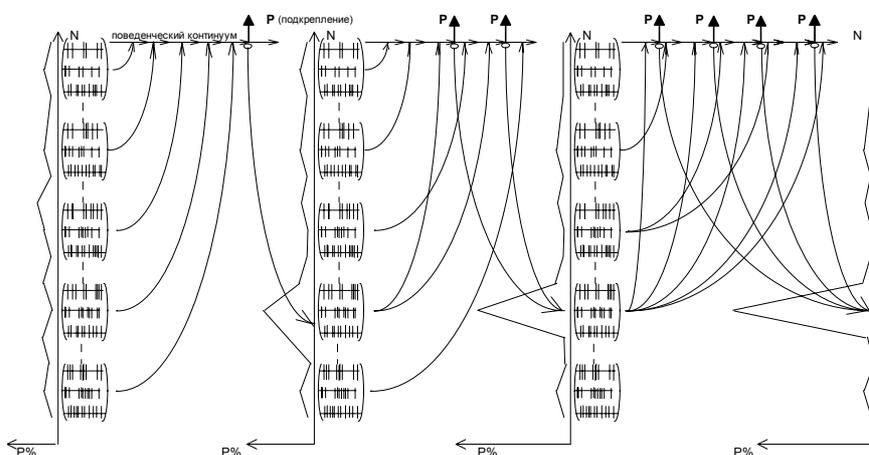


Рис.38. Схема, иллюстрирующая процесс формирования согласованной нейронной активности на основе принципа селекции и “закона эффекта”.

ция самообучения животного (autoshaping) использованию выработанного ранее навыка при экстренной реорганизации среды.

Выбор такой экспериментальной модели обусловлен тем, что изначальный (стартовый) поведенческий репертуар разных животных здесь уже оказывается в значительной мере унифицирован. Более того, определенную функциональную маркировку получают и системоспецифичные нейроны, выступающие в дальнейшем в качестве материала селекционного процесса. Это позволяет делать объективный вывод относительно динамики их участия в реорганизации соответствующих системных процессов.

Методика.

Разработка специальной экспериментальной модели для решения поставленной задачи была осуществлена нами в конце 1970-х годов [Швыркова Н., Бобровников Л., 1979; Швырков В., 1979].

Опыты проводили на кроликах-самцах породы шиншилла. Перед началом экспериментов в камеру помещали две автоматические кормушки (слева и справа) и одну педаль, изначальную устанавливаемую рядом с левой кормушкой (ситуация №1). Именно такое расположение педаль-кормушка постоянно сохранялось во время обучения животного, а также в первый период регистрации у него разрядной активности отдельных нервных клеток.

Активность каждого нейрона регистрировали и анализировали в 10-15 инструментальных актах в ситуации №1. Затем педаль переносили в гнездо рядом с правой кормушкой, а пищу подавали в левую кормушку. Регистрация активности исследуемого нейрона продолжалась как на протяжении всего периода смены, так и в новой ситуации (педаль справа, кормушка - слева).

Как выяснилось, такого рода реорганизация внешней среды кардинальным образом сказывается на поведении подопытного животного. Достижение приспособительного результата в новых условиях становится возможным только

после достаточно продолжительного периода обучения (переучивания). При этом возникала возможность исследовать активность отдельных нейронов непосредственно в период формирования нового (измененного) инструментального действия. При регистрации некоторых нервных клеток смену местоположения педали и кормушки удавалось осуществлять до 4-х раз.

При определении основных параметров пищедобывательной деятельности по записям чернилопишущего прибора измеряли: "время поведенческого акта" (интервал от момента вынимания кроликом морды из кормушки после взятия из неё пищи до следующего опускания в кормушку за новой порцией еды); продолжительность периода времени между двумя последовательными нажатиями на педаль; длительность "активных действий" (движение к педали + нажатие на неё + движение к кормушке). Объектом исследования были нейроны сенсомоторной и зрительной областей коры головного мозга.

Результаты исследования (поведение)

Поведенческий репертуар обученных животных носил стереотипный характер. После выполнения 40-50 результативных инструментальных действий (ситуация №1), исходная пищедобывательная деятельность сменялась комфортным, территориальным, ориентировочно - исследовательским поведением, а также вторичным пищевым (копрофагия). Затем она вновь возобновлялась 10-15 мин. и т.д. Такого рода цикличность процесса насыщения характерна для данного вида животных.

При первой смене местоположения педали и кормушки у кроликов наблюдалось ориентировочно-исследовательское поведение, в ходе реализации которого они активно обследовали экспериментальную камеру. При этом резко возрастала частота появления так называемой "вертикальной активности" (вставание на задние лапы). В некоторых случаях отмечались характерные проявления агрессивного поведения.

Важно отметить, что повышенная пищедобывательная активность кролика в такие периоды времени содержала **только фрагменты прошлого поведения**: подходы к педали и кормушке, "проверочные" опускания морды в кормушку. Наряду с этим резко возрастала интенсивность других типов двигательной активности (ориентировочно-исследовательской, комфортной и т.п.), в ходе реализации которых животные случайно наступали на педаль, включая тем самым левую (новую) кормушку. После 4-8 таких случайных нажатий у кроликов формировалось устойчивое циклическое инструментальное поведение. И все же на этом этапе даже после очередного эффективного нажатия на педаль побежка к кормушке происходила не сразу, а с определенной задержкой во времени, в ходе которой проявлялись не пищедобывательные формы поведения. Аналогичная закономерность наблюдалась и в период после поедания очередной порции пищи. Лишь постепенно после неоднократных повторных изменений местоположения педали и кормушки инструментальное поведение становилось сходным со своей исходной формой (ситуация №1).

В целом, формирование инструментального пищедобывательного поведения в ситуации №2 повторяло этапы становления этого поведения в исходной ситуации №1. Т.е. начиналось оно с ориентировочно-исследовательского поведения, чередующегося с другими типами деятельности (комфортным, оборонительным, территориальным) и лишь после выполнения ряда случайных нажатий оно постепенно из эпизодического трансформировалось в циклическое инструментальное пищедобывательное.

Проведенный актографический анализ позволяет выделить две общие стадии реорганизации поведенческого континуума при обучения кролика:

1) период "поискового" поведения, связанного с достижением первых "эпизодических" результатов;

2) стадию результативного циклического инструментального пищедобывательного поведения.

В наших условиях средняя величина "времени пове-

денческого акта" (получения одной порции пищи) в ситуации №2 после 100-200 повторений значительно превышало аналогичный показатель поведения в ситуации №1 (соответственно, 445 мс и 2360 мс, ($p < 0,05$). Возрастала также и средняя продолжительность периода активных действий (ситуации №1 - 300 мс, ситуация №2 - 700 мс, ($p < 0,05$). Аналогичные соотношения были характерны и для показателей вариативности соответствующих величин.

Результаты исследования (нейроны).

В рамках микроэлектродных исследований этой серии опытов была зарегистрирована разрядная активность 44 нейронов зрительной и 46 нейронов сенсомоторной коры головного мозга. По результатам проведенного анализа удалось выделить 3 основные группы специализированных нервных клеток. В первую входили 47 нейронов, фазные активации которых были статистически достоверно связаны с передвижением кроликов по камере. Вторую составляли 17 клеток, которые активировались только в связи с захватом пищи из кормушки и жеванием. К нейронам третьей группы были отнесены 15 клеток, активации которых наблюдались в связи с подходом животного к педали и нажатием на неё. У остальных зарегистрированных нами нейронов не удалось выявить статистически достоверной корреляции из разрядной активности с какими либо конкретными этапами поведения.

В ситуации №2 на первом этапе переучивания, т.е. в ходе реализации "поискового" поведения была зарегистрирована активность 16 нейронов первой группы, 6 нейронов второй группы, 9 - третьей. Выявлено три варианта динамики изменений нейронной активности вне пищедобывательной деятельности: полное торможение, переход к регулярной форме биоэлектрических разрядов и активация в связи с различными типами поведения. Так как один и тот же нейрон удавалось регистрировать в разных типах поведения, то число указанных наблюдений превышает число исследованных на первой стадии обучения нейронов.

На второй стадии обучения при осуществлении циклического пищедобывательного поведения в ситуации №2 была зарегистрирована активность 119 нейронов. Из них 36 относилось к клеткам 1 группы, 17 - второй и 9 - третьей. 24 нейрона удалось исследовать в обеих ситуациях и на всех стадиях обучения. Характерные изменения нейронной активности имели место в каждой из выделенных групп.

Из 47 клеток первой группы 18 нейронов (напр., рис.39) избирательно активировались при движении кроли-

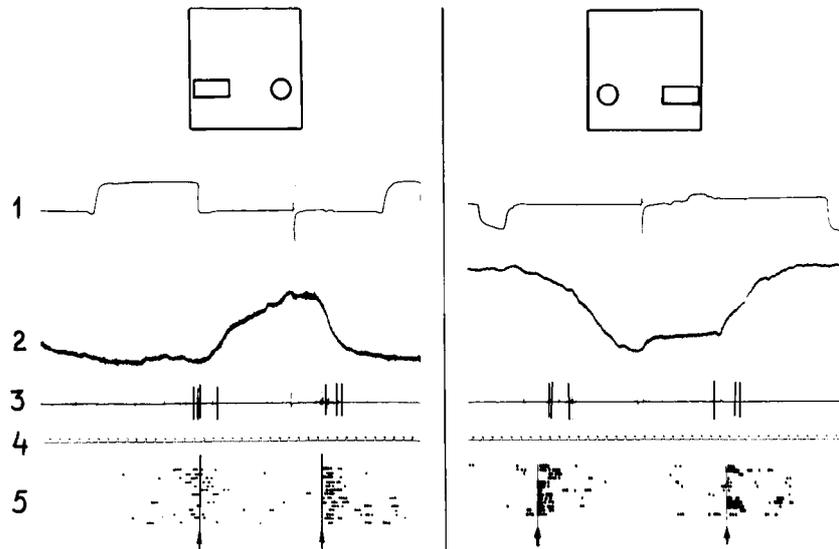


Рис.39. Неизменность корреляции нейронной активности с началом движения животного к педали и кормушке до и после изменения их взаиморасположения. 1- отметки взятия пищи: смещение линии вверх - из левой, вниз - из правой кормушки; вертикальная короткая линия - нажатие на педаль; 2- актограмма (см. подпись к рис.19); 3- нейронограмма; 4- отметка времени 100 мс; 5- растры нейронной активности построенные от моментов начала побегов к педали и кормушке.

ка только в одном направлении и 29 при его перемещениях в любом направлении. После смены местоположения педали и кормушки в период поискового поведения в 10 случаях нейроны данной группы тормозились, в трех случаях - приобретали регулярную форму активности, а в 5 - активировались.

Из 17-ти нейронов второй группы в ситуации №1 одиннадцать нейронов активировались в связи с захватом пищи из кормушки и 6 -при жевании. На первом этапе обучения в ситуации №2 торможение импульсации наблюдалось у 9 клеток, 4 нейрона приобретали ритмическую форму активности и у двух отмечалось статистически достоверное повышение средней частоты их разрядов. При реализации пищедобывательного поведения 6 нейронов фазно активировались при жевании в обеих ситуациях. 4 нейрона, избирательные активации которых в ситуации №1 наблюдались только при захвате пищи из кормушки, в ситуации №2 полностью тормозились.

У 7 нейронов активации в связи с взятием еды отмечались в обеих ситуациях, но имели разную степень выраженности соответствующих перестроек импульсации (например, рис.40). Такие клетки перестраивали свою активность при изменении местоположения педали и кормушки в ходе реализации 6-10 пищедобывательных инструментальных актов. Кроме того, у них наблюдалось значительное снижение средней частоты импульсации при любых движениях кролика по экспериментальной камере.

Рассмотренные выше закономерности позволяют констатировать наличие трех возможных вариантов соотношения активности нервных клеток:

- 1) аналогичные активации в двух рассматриваемых ситуациях;
- 2) полное исключение активности в ситуации №2;
- 3) увеличение продолжительности активации и изменение её структуры.

У нейронов третьей группы в ситуации №1 фазные активации имели место только при движении животного у пе-

дали. В другие периоды времени у них наблюдались лишь отдельные редкие потенциалы действия.

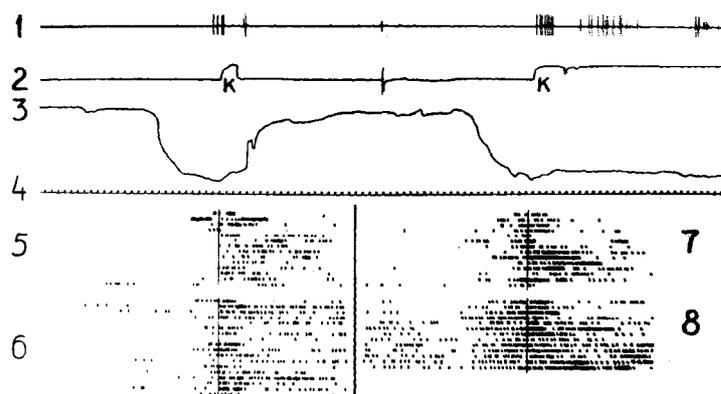


Рис.40. Сохранение характерного паттерна разрядной активности нервной клетки в условиях многократной смены месторасположения педали и кормушки. Обращает на себя внимание разная степень выраженности (как и на рис.39) фазных нейронных активаций в сравниваемых случаях. 1-нейрограмма; отметки взятия пищи из кормушек (см. подпись к рис.21); 3- актограмма перемещений животного по камере; 4- отметка времени 100 мс; 5- растры нейронной активности, построенные от момента опускания кроликом морды в кормушку.

9 нейронов из 15 были зарегистрированы на стадии поискового поведения. Ни у одного из них не наблюдалось фазной активности во время реализации других типов поведения.

Во второй ситуации на стадии возникновения уже результативного, но ещё не автоматизированного инструментального поведения у таких нейронов в момент начала поворота к "новой" педали регистрировались характерные

фазные активации. Причем, прекращались они независимо от нажатия на педаль и значительно раньше стука подаваемой кормушки. При возврате к первой ситуации активации при подходе к педали и нажатии на неё вновь восстанавливались. Несомненный интерес представляет тот факт, что по мере становления пищедобывательного инструментального поведения в ситуации №2 активации, коррелирующие с поворотом к педали, постепенно уменьшались вплоть до полного своего исчезновения. Когда пищедобывательное поведение в обеих ситуациях становилось сходным, в ситуации №1 у нейронов третьей группы наблюдалось возникновение предрезультатных активаций, а в ситуации №2 - лишь редкие отдельные спайки. Таким образом, все без исключения нейроны этой группы перестраивали свою активность в ситуации №2 и не вовлекались в обеспечение других типов приспособительного поведения.

Установленная закономерность, на наш взгляд, имеет принципиально важное значение. Действительно, поскольку педаль - это объект среды, который кролики впервые выделяли во время обучения в ситуации №1, то активации, наблюдаемые при подходе и нажатии на это устройство, могли быть сформированы только на данном этапе обучения. С этой точки зрения, именно эти активации можно рассматривать как проявление активности нейронов формирования новой функциональной системы в связи с выделением нового объекта среды - педали - используемого для достижения полезного приспособительного результата (подачи пищи в кормушке). Обращает на себя внимание и тот факт, что такого рода активации не зависят от параметров двигательной активности животного (траектория, скорость и т.п.), а также от количества и продолжительности нажатий на педаль.

Полученные данные позволяют утверждать, что феномен предрезультатных нейронных активаций формируется в процессе обучения в ходе выделения какого-либо момента в континууме соотношения организма с окружающей его средой в качестве момента достижения необходимого

результата. Они соответствуют реализации функциональной системы, направленной на получение этого результата, и представляют собой "опережающее отражение действительности".

Анализ нейрофизиологических процессов, наблюдаемых на стадии развертывания поискового поведения (в ситуации №2) позволяет сделать следующие выводы.

При невозможности достижения результата в рамках сформированной ранее функциональной системы, изменения, приводящие к становлению нового способа решения данной поведенческой задачи, начинаются с процесса реорганизации всего поведенческого континуума. Вместо пищедобывательной деятельности наблюдаются: ориентировочно-исследовательское, комфортное, оборонительное и другие виды поведения. Как известно, эта закономерность детально описана в работах этологов и была определена ими как феномен смещенной активности. Функциональные системы разных типов поведения, реализуемые на этой стадии обучения, образуют "поисковое" поведение, направляемое разными мотивациями, а не только мотивацией голода.

Возможность выбора поведения с мотивацией, отличной от той, на основе которой идет обучение, обуславливает использование индивидуального опыта животного вне зависимости от истории его приобретения. Реальность такой закономерности доказывают работы по изучению переноса навыка а также экспериментальные данные по формированию оборонительного поведения на основе пищедобывательной функциональной системы [Бобровников Л., 1982 в].

Анализ нейронной активности на этой стадии обучения показал, что соответствующие функциональные изменения меньше всего затрагивают нейроны, связанные с движением. Кроме того, в рассматриваемые периоды времени активируются также и те нейроны, которые вообще не были вовлечены в функциональную систему пищедобывательного поведения, а были связаны с процессами форми-

рования других его типов. Нейроны же, активные только в пищедобывательных актах, не дают активаций, хотя у них и может наблюдаться общее повышение уровня импульсации.

Стадия совершенствования инструментального поведения (ситуация №2)

Сравнительный анализ нейронной активности в циклическом пищедобывательном поведении в двух ситуациях показал следующее. Нейроны, фазные активации которых коррелируют с движениями, обеспечивают пищедобывательное поведение в обеих ситуациях. До и после изменения среды сходно активировались нейроны второй группы во время жевания.

Значительные изменения наблюдаются в активности нейронов, активации которых коррелируют с целостными поведенческими актами, сформированными во время обучения в ситуации №1. Вначале такие нейроны вовлекаются в обеспечение пищедобывательной деятельности в ситуации №2, но форма их активности отличается от таковой в аналогичном акте ситуации №1. Новая функциональная система использует другие "степени свободы нейрона" (П.К.Анохин), о чем говорит изменение места и характера активации в соответствующем поведенческом акте. Динамика активности нейронов третьей группы в ситуации №2 позволяет считать, что активность нейронов "новой" функциональной системы, сформированной в ситуации №1, использовались при формировании аналогичной функциональной системы в ситуации №2. Однако, по мере совершенствования поведения в ситуации №2 это использование менялось. Вместо активации во время реализации новой функциональной системы (во время поворота к педали) остаются всего один-два спайка до начала поворота.

Резюме

1. Обучение - формирование новой функциональной системы - начинается с процесса реорганизации **всего поведенческого континуума**. При этом, и на поведенческом, и на нейрональном уровне в первую очередь затрагиваются наиболее глобальные, комплексные интеграции (системы цикла, поведенческого акта).

2. Первое достижение полезного приспособительного результата происходит во время поискового поведения, состоящего из ориентировочно - исследовательского, оборонительного, комфортного и других его типов, которые обеспечиваются активациями большого числа нейронов, ранее исключенных функциональной системой регулярного (циклического) пищедобывательного поведения, и активациями нейронов subsystem движения "старой" пищедобывательной функциональной системы.

3. Образованию новой функциональной системы при обучении соответствует формирование у части нейронов предрезультатных активаций, которые обеспечивают целенаправленную активность организма для достижения результата - "нового" события в соотношении организм-среда.

4. В интеграцию новой функциональной системы вовлекаются также сформированные ранее и имеющиеся в индивидуальном опыте животного системы движений и соответствующие им совокупности нейронов. Однако в новой ситуации паттерн разрядной активности таких клеток, а также степень выраженности феномена их поведенческой специализации в большинстве случаев статистически достоверно **отличаются** от своих исходных параметров.

Глава 5

"Закон эффекта" и нерцепрокные формы доминантного взаимодействия

При очевидном сходстве основных положений общей теории функциональных систем и концепции оперантного обусловливания, между ними достаточно четко прослеживается целый ряд существенных различий. Прежде всего, это касается особенностей интерпретации "закона эффекта". Действительно, если в рамках теории функциональных систем констатируется императивная (т.е. исключительная) роль результата (эффекта целенаправленного действия), то согласно представлениям Торндайка-Скиннера положительное подкрепление определенного действия лишь повышает вероятность его повторного воспроизведения. Это значит, что помимо результата (эффекта) имеется еще ряд каких-то не менее существенных факторов, способных оказывать детерминирующее влияние на исход селекционного процесса формирования поведенческой активности человека и животных.

Что собой представляют эти факторы? Какие именно физиологические переменные могут играть роль модуляторов "закона эффекта", предопределяя своим воздействием не детерминированный, а лишь вероятностный характер его проявления?

С нашей точки зрения в данном случае можно говорить о возможном влиянии нескольких качественно различных переменных. И наиболее значимым среди них, несомненно, является наличие субдоминантных межсистемных соотношений [Анохин П.К., 1968].

Этот феномен отмечается многими авторами. Особого внимания в этом плане заслуживают выводы многочисленных этологических исследований. Как показали результаты наблюдения за поведением животных в естественных условиях, между различными по характеру своей приспособительной направленности целостными деятельностями организма очень часто складываются особые нерцепрок-

ные формы отношений. В такие периоды времени вытесняемое поведение не просто сохраняется в скрытом (субдоминантном) виде, но и оказывает при этом активное модулирующее влияние на события, происходящие в процессе формирования более актуальной на данный момент деятельности [Хайнд Р., 1978; Тинберген Н., 1982].

Именно работы этологов послужили толчком к проведению в начале 1980-х годов серии специальных нейрофизиологических исследований в данном направлении [Бобровников Л., 1982; 1984; 1986]. Основная идея этих опытов заключалась в сравнительном исследовании активности одних и тех же нейронов, регистрируемых в стереотипном оборонительном инструментальном поведении “на фоне” незавершенной пищедобывательной деятельности (субдоминанта) и после удовлетворения животным пищевой потребности (устранение субдоминанты).

Методика

В качестве базовой методики была выбрана модифицированная модель чередующегося во времени инструментального пищедобывательного и оборонительного поведения (см. раздел II, глава 3). Т.е. опыты проводились на кроликах, которые предварительно были обучены нажимать передними лапами на площадку одной и той же педали для получения пищи и устранения (по звуковому сигналу) болевого раздражения.

Отличие заключалось в том, что для создания ситуации столкновения разно мотивированных форм поведенческой активности звуковой оборонительный сигнал подавался в ходе начала активной фазы поедания животным пищи из кормушки.

Для проведения сравнительного анализа с ситуацией обычной (“не экстренной”) смены целенаправленных действий, предъявление сочетаний звук-ЭКР продолжалось с той же периодичностью в 2-3 минуты и после того, как циклическое пищедобывательное поведение прекращалось. На

этом, завершающем этапе экспериментов оборонительное поведение кроликов незначительно отличалось от предыдущего: в ответ на включение тона 800 гц следовала побежка к педали, нажатие на нее передними лапами и вновь возвращение в определенное место экспериментальной камеры.

Актографический анализ поведения животных показал, что после 16-18 дней предварительного обучения у всех кроликов формируется стандартный способ подхода к педали и нажатия на нее в пицедобывательных и оборонительных актах. Это подтверждается сравнением таких показателей инструментального поведения, как величина латентного периода двигательной реакции, длительность активных действий, продолжительность периода от момента включения звукового сигнала до момента достижения результата (нажатие на педаль). Кроме того, проводилась регистрация на видеоманитофон движений животных в экспериментальной камере во время опыта. Полученные данные показали, что циклограммы перемещений подопытных животных от кормушки к педали в сравниваемых случаях совпадали друг с другом.

Сходными были и начальные условия инструментальных актов. И в пицедобывательном, и в оборонительном поведении движение к педали начиналось, как правило, от кормушки. Это было характерно для оборонительных актов не только на начальном, но и на завершающем этапе проведения опытов. В ходе обучения животные достаточно быстро приучались в интервале времени между предъявлениями сочетаний "звук-ЭКР" находиться именно в той части экспериментальной камеры, где располагалась автоматическая кормушка.

Таким образом, рассматриваемый поведенческий континуум подопытных животных включал в себя два основных периода оборонительного поведения. Начальный, когда каждый инструментальный оборонительный акт экстренно прерывал активные пицедобывательные действия, и завершающий период, в котором ситуация экстренной

смены пищедобывательного поведения на оборонительное была уже исключена. Необходимо особо подчеркнуть, что именно последний этап оборонительных действий воспроизводил в наших опытах экспериментальные условия, в которых до настоящего времени обычно изучались нейрофизиологические механизмы инструментального поведения животных. Соответственно при анализе полученных данных мы выделяли две группы инструментальных оборонительных актов. Это позволяло сопоставлять разрядную активность зарегистрированных клеток в "обычных" оборонительных актах (1 группа) и в актах, формирующихся на фоне сохраняющейся мотивации голода и стремления животного к её удовлетворению (2-я группа).

Результаты исследования

Импульсная активность 64 сенсомоторных нейронов последовательно анализировалась на всех этапах приспособительного поведения: во время реализации пищедобывательных актов, оборонительных актов 1 и 2-ой групп. При этом оказалось, что разрядная деятельность 10 клеток существенным образом отличалась в сравниваемых двух типах оборонительного поведения. Важно отметить, что различия эти затрагивали весь период оборонительной деятельности вплоть до момента достижения животным полезного приспособительного результата.

Было установлено, что сходство или различие паттерна активности того или иного нейрона в рассматриваемых случаях в значительной мере определяется формой его участия в исходном пищедобывательном поведении. Так, у 4-х зарегистрированных клеток наблюдалось резкое возрастание частоты разрядов только во время реализации оборонительных актов 1-ой группы. Оказалось, что каждый из таких нейронов избирательно активировался и на заключительных стадиях инструментального пищедобывательного поведения. Например, у нейрона, представленного на рис.41, наблюдалось значительное повышение частоты его разрядов в акте захвата пищи. Кроме того, он избирательно

активировался на всех этапах реализации оборонительных актов 1-ой группы (рис. 41 Б). Однако в оборонительных

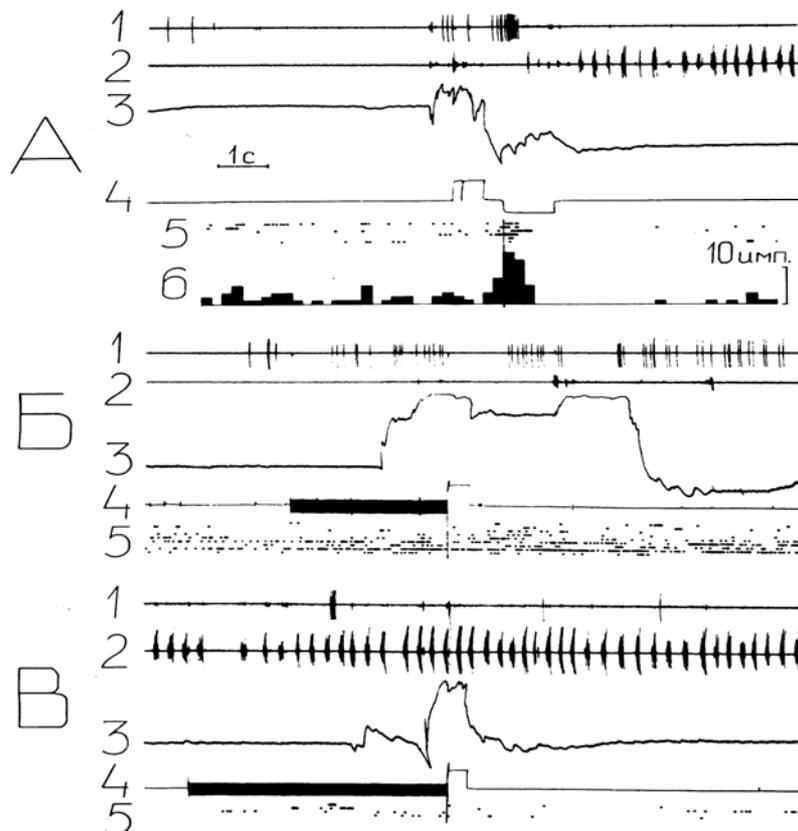


Рис.41. Активность нейрона в пищедобывательном поведении (А) и в оборонительных актах 1-ой (Б) и 2-ой (В) групп. 1- нейронограмма; 2- миограмма жевательных мышц; 3- актограмма; 4- отметки нажатия на педаль (отклонение кривой вверх), взятия пищи (вниз) и оборонительного звукового сигнала (сплошная темная линия). Растр (5) и гистограмма (6) построены от момента опускания кроликом морды в кормушку (А) и нажатия на педаль (Б, В).

актах 2-ой группы такая генерализованная активация уже отсутствовала (рис.41 В).

У 3-х других нейронов в оборонительных актах 1-ой группы отмечались фазные активации в связи с нажатием кролика на педаль. Один из таких случаев иллюстрирует рис.42 А.

Сопоставление разрядной активности данной клетки в "обычных" оборонительных актах и в актах, формирующихся после экстренного прекращения пищедобывательного поведения, выявило существенные различия интервальных характеристик в этих двух случаях. Несомненно, решающим здесь было то обстоятельство, что во второй группе сравниваемых актов процесс жевания восстанавливался не после окончательного завершения оборонительных действий, а значительно раньше. При этом сохранялся и характерный паттерн разрядной активности.

Соответственно в оборонительных актах 1-й группы такая форма импульсации отсутствовала, зато отмечалась активация в связи с нажатием животного на педаль. Поэтому импульсная активность данного нейрона в период развертывания оборонительной деятельности "на фоне" незавершенного пищедобывательного поведения характеризовалась сразу двумя различиями по сравнению с "обычными" актами. Во-первых, особым паттерном распределения межимпульсных интервалов, а, во-вторых, отсутствием фазной активации, которая обычно имела место после нажатия животного на педаль.

У этого нейрона на протяжении всего периода жевания отмечались повторяющиеся через каждые 100 - 200 мс активации, которые всякий раз были связаны с фазой открывания рта. Такая ритмичная импульсация регистрировалась только во время жевания.

В отличие от 4-х предыдущих нейронов, у 2-х других нейронов было выявлено статистически достоверное ($P < 0,05$) повышение частоты разрядов только во время развертывания оборонительных актов 2-ой группы. Ни в пищедобывательном, ни в "обычном" оборонительном по-

ведении эти нейроны не активировались, что и определило возникновения различий в сравниваемых случаях реализации оборонительной деятельности (рис.43).

И, наконец, ещё одну группу составляли 4 нейрона, активность которых была связана с определенной фазой жевательных движений. В сравниваемых группах оборонительных актов разрядная деятельность каждого из них была существенно различной.

Причина этого - сохранение после экстренной смены пищедобывательного поведения на оборонительное процесса жевания.

В целом данные, которые были получены в настоящей работе, подчеркивают значительные различия в импульсной активности клеток сенсомоторной коры в оборонительных актах, формирующихся "на фоне" незавершенной пищедобывательной деятельности по сравнению с "обычными" оборонительными актами. У разных нейронов это отражалось в изменении различных параметров их разрядной деятельности. У клеток, активность которых была связана с процессом жевания, периоды формирования оборонительных актов 1-ой и 2-ой групп характеризовались различным паттерном распределения межимпульсных интервалов. Причина этого заключалась в продолжении развертывания исполнительных механизмов исходной пищедобывательной деятельности во время реализации оборонительных актов 2-й группы.

У ряда других клеток наблюдалось изменение соотношений фаз активаций в сравниваемых двух случаях реализации инструментальной оборонительной деятельности. Таблица, представленная на рис.44, иллюстрирует эту закономерность. Нетрудно заметить, что нейроны, которые по-разному разряжаются в оборонительных актах 1-й и 2-й групп, как правило, избирательно активируются на определенных этапах инструментального пищедобывательного поведения.

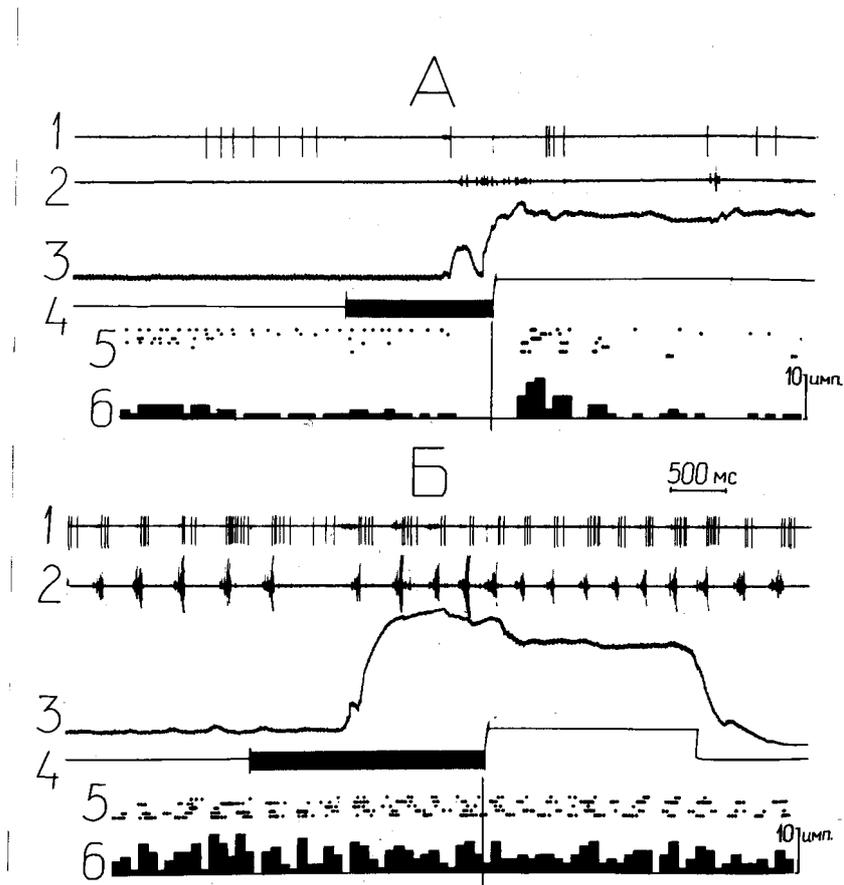


Рис.42. Различный характер импульсной активности нейрона в "обычных" инструментальных оборонительных актах (А) и в актах, формирующихся "на фоне" незавершенного пищедобывательного поведения животного (Б). Обозначения как на рис.41. Растры и гистограммы построены от момента нажатия на педаль.

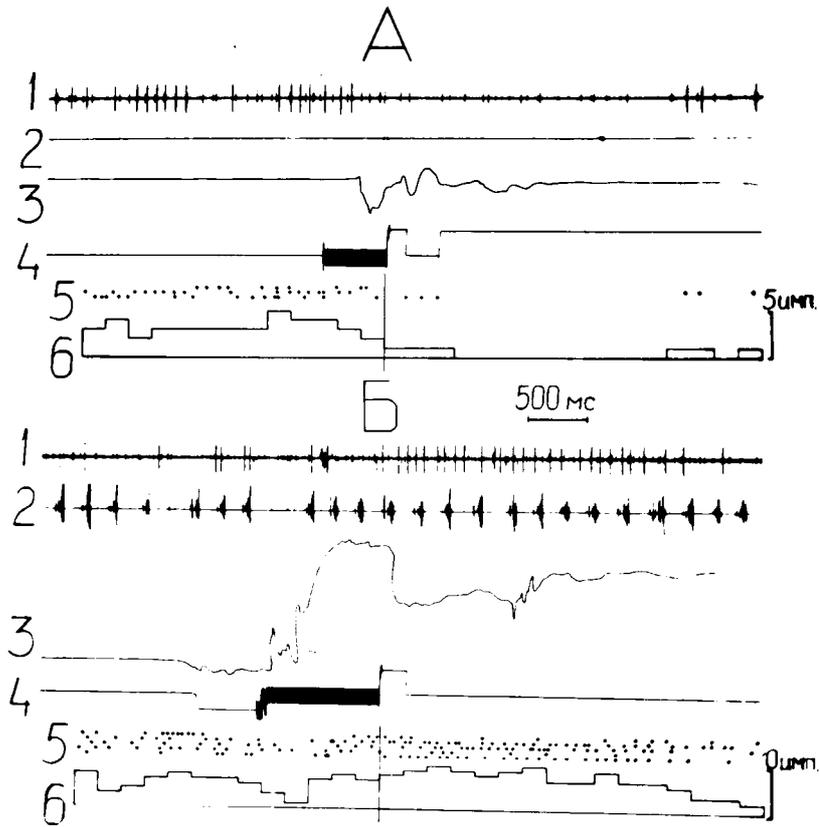


Рис.43. Особенности организации нейронной активности в оборонительных актах первой (А) и второй (Б) групп. Обозначения как на рис.41. Растрры и гистограммы построены от момента нажатия животного на педаль (ширина канала - 200 мс).

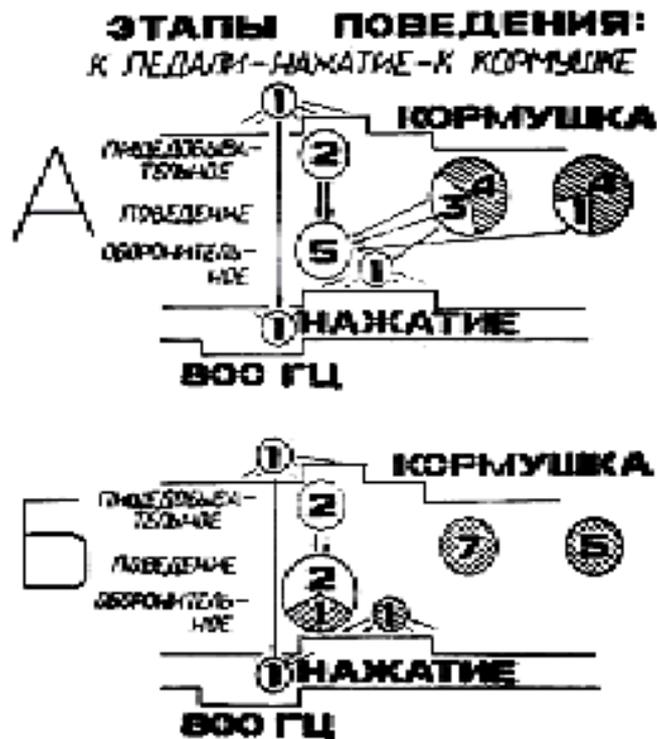


Рис.44.Соотношение фазных активаций нейронов в пищедобывательных и оборонительных актах 1-ой группы (А) и 2-ой группы (Б). Цифры отражают количество нейронов, активирующихся на соответствующем этапе поведения. Не заштрихованная часть каждого кружка - число клеток, активных и в пищедобывательных, и в оборонительных актах.

Обсуждение результатов

Согласно теории функциональных систем основу любой формы приспособительного поведения составляет определенная интеграция физиологических центрально-периферических процессов. Было установлено, что результат целенаправленной деятельности выступает в роли императивного системообразующего фактора, детерминирующего процессы вовлечения тех или иных компонентов в состав соответствующей интеграции [Анохин П., 1971]. Исходя из этих представлений в поведенческом континууме челоовек и животных выделяются особые периоды (поведенческие кванты), когда развертывание самых различных физиологических процессов оказывается направлено на решение единой функциональной задачи - достижение определенного результата. Такая направленность прослеживается в каждом из этих периодов на всех уровнях организации физиологических функций, вплоть до активности отдельных клеток центральной нервной системы.

В нашем случае оборонительное поведение, реализация которого происходила "на фоне" незавершенного пищедобывательного действия, сравнивалась по своему нейрональному обеспечению с "обычными" случаями развертывания инструментальной оборонительной деятельности. Как уже отмечалось, по основным поведенческим показателям и результату инструментальные акты 1-й и 2-й групп не отличались друг от друга. По существу, единственное различие между ними состояло лишь в том, что в первом случае ситуация экстренной смены пищедобывательного поведения на оборонительное была исключена.

Однако оказалось, что именно данное обстоятельство существенно сказывается в организации нейрональных механизмов инструментального оборонительного поведения. Импульсная активность 10 из 45 зарегистрированных клеток сенсомоторной области коры была различна практически на всех этапах реализации сравниваемых актов.

Полученные в настоящей работе данные позволяют

не только констатировать факт различий нейрональной основы оборонительных актов 1-й и 2-й групп, но и выяснить вероятные причины их возникновения.

Было установлено, что у обученных животных завершение исходного пищедобывательного акта и начало экстренного формирования оборонительной деятельности не приводит к полному устранению всех компонентов исполнительного действия функциональной системы пищедобывательного поведения. Есть все основания считать, что данный феномен одно из проявлений наличия "пищевой субдоминанты". Это вполне соответствует "характеристике соотношений доминирующей функциональной системы с оттесняемыми функциональными системами", которая была дана П.К.Анохиным

По-видимому, не случайно в состав интеграции оборонительных актов 2-й группы не входили именно те нейроны, которые избирательно активировались в рамках инструментального пищедобывательного поведения. Из 15 таких клеток активность только 3 нейронов была связана с реализацией данной оборонительной деятельности.

В том случае, когда такая субдоминантная функциональная система отсутствовала, формирование оборонительной интеграции происходило уже за счет широкого вовлечения в ее состав нейронов, активирующихся во время развертывания различных субсистем пищедобывательного поведения (рис.44 А). Причем резкое возрастание частоты их разрядов, как правило, было приурочено к одному и тому же моменту инструментального оборонительного акта - достижению животным приспособительного результата.

Именно в этот момент происходила своеобразная синхронизация процессов возникновения избирательных активаций у различных по своим функциональным свойствам клеток.

Особо следует остановиться на случае, когда нейрональная активность была связана не только с нажатием животного на педаль, в оборонительных актах 1 группы, но

и с определенной фазой жевательных движений. Этот пример отчетливо демонстрирует, что в период реализации оборонительной деятельности фактор "пищевой субдоминанты" может оказывать более существенное влияние на организацию нейрональных процессов, чем результат самого оборонительного поведения.

Закономерно возникает вопрос о соответствии приведенных выше данных основным положениям теории функциональных систем, прежде всего, представлению о результате целенаправленной деятельности как императивном системообразующем факторе, который определяет процессы формирования текущей интеграции физиологических функций. "Результат, - писал П.К.Анохин, - господствует над системой и над всем формированием системы доминирует влияние результата" [Анохин П.К., 1978. С.45]. Это положение имеет ключевое значение и неразрывно связано с другим принципом, сформулированным П.К.Анохиным, - принципом доминирования функциональных систем. Только благодаря реципрокным соотношениям между узловыми механизмами различных целенаправленных деятельностей определенный результат приобретает роль императивного системообразующего фактора. В связи с этим подчеркивалось, что "каждая развертывающаяся в данный момент функциональная система является единственной. Она целиком занимает интегративные аппараты организма и исключает возможность сосуществования с другими функциональными системами" [Анохин П.К., 1948, С.84].

Сформулированные принципы основываются на многочисленных исследованиях, которые проводились с использованием разнообразных экспериментальных моделей. В этом плане ситуация формирования целенаправленной оборонительной деятельности "на фоне" незавершенного пищедобывательного акта качественно отличается от ранее анализируемых случаев, в первую очередь возникновением особых нереципрокных соотношений между исходной пищедобывательной и экстренно сменяющей ее обо-

ронительной деятельностью.

Уже при проведении актографического анализа поведения животных в опыте [Бобровников Л., 1982в] мы обнаружили ряд фактов, которые нельзя было объяснить с позиций приведенного выше принципа доминирования. Было установлено, что процессы афферентного синтеза и принятия решения функциональной системы оборонительного поведения могут осуществляться и в ходе пищедобывательного акта. Кроме того, оказалось, что такой компонент исполнительного действия функциональной системы пищедобывательного поведения, как процесс жевания часто разворачивается во время реализации оборонительной деятельности.

Особенно отчетливо эта закономерность была выявлена в последующих сериях опытов, в которых анализировалась нейрональная активность, связанная с различными фазами жевательных движений.

Вместе с тем параллельная реализация узловых механизмов пищедобывательной и оборонительной деятельности является лишь одной из форм проявления особых соотношений, которые складываются в рассматриваемом случае между функциональными системами различного биологического качества.

Другая, не менее важная особенность заключается в существенном изменении состава оборонительной интеграции, формирующейся "на фоне" незавершенного пищедобывательного поведения. Важно подчеркнуть, что при этом меняется не только активность определенных нейронов, входящих в соответствующую интеграцию. Меняются принципиальные закономерности ее формирования. Здесь уже полезный приспособительный результат перестает быть императивным фактором, определяющим процессы вовлечения тех или иных компонентов в состав текущей интеграции физиологических функций. Своеобразное "модулирующее" влияние на эти процессы начинает оказывать субдоминантная функциональная система. Именно поэтому организация нейрофизиологических процессов, лежащих

в основе поведенческого акта в подобных случаях существенно зависит от особенностей реализации предыдущей формы целенаправленного поведения (ее мотивационной основы и степени завершенности). Другими словами, нейрональное обеспечение акта во многом определяется его "местоположением" в поведенческом континууме.

Резюме

1. В рамках реализации селекционного принципа формирования поведенческой активности человека и животных результат (эффект) действия не является исключительным (императивным) фактором, определяющим исход данного процесса. Не менее важную роль здесь играет и механизм доминантно-субдоминантных соотношений, складывающихся между различными по характеру своей приспособительной направленности целостными деятельностями организма.

2. Процесс вытеснения из поведенческого репертуара менее актуальной на данный момент функциональной системы не приводит к ее дезинтеграции. В этом отношении системные механизмы поведения демонстрируют существенно иную динамику, нежели динамика торможения условных рефлексов.

3. Сохраняясь как целое в субдоминантном состоянии, исходная деятельность способна оказывать четко выраженное модулирующее влияние на процесс формирования доминантной системы.

4. Как показывает анализ компонентного состава взаимодействующих таким образом функциональных систем, перераспределение вероятностей в рамках реализации "закона эффекта" не разграничивается междоминантными барьерами. Повышение вероятности повторного воспроизведения подкрепляемого действия влияет и на поведение, имеющее иную мотивационную основу.

5. Степень выраженности феномена поведенческой специализации нервных клеток оказывается при этом одним из наиболее информативных параметров, отражающих динамику межсистемных отношений.

ОБЩЕЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ ПО II РАЗДЕЛУ

Какие общие выводы о работе нейронов головного мозга можно сделать на основе анализа их биоэлектрической активности в поведении?

Прежде всего, вывод о том, что базовым нейрофизиологическим феноменом целенаправленной деятельности является феномен поведенческой (системной) специализации нервных клеток. Проявляется он в том, что у множества дистантно расположенных нейронов возникают закономерно повторяющиеся от акта к акту однонаправленные изменения частоты импульсации, приуроченные к строго определенным этапам целенаправленного действия. Формируясь одновременно в сенсорных и моторных областях головного мозга, они характеризуются аномально высоким уровнем стабильности.

Анализ этого явления позволяет заключить, что единицей активности нервной клетки в поведении является не процесс генерации отдельных спайков, эстафетно распространяющихся от клетки к клетке через “эффективные” синапсы. В качестве единицы нейронной активности в естественных условиях всегда выступает определенный паттерн биоэлектрических разрядов, соотношенный с полным периодом реализации элементарного поведенческого акта - паттерн, охватывающий весь этот период от начала до конца (до результата).

При этом любые формы поведения млекопитающих характеризуется колоссальной избыточностью вовлеченных в процесс своего обеспечения нервных клеток, число которых при формировании даже простейших движений (например, открывание рта при жевании) может достигать многих сотен тысяч, а, возможно, и миллионов.

Особого внимания при этом заслуживает тот факт, что в рамках набора клеток, специализированных в отношении одного и того же поведенческого акта, наблюдается существенный разброс параметров их импульсации. Здесь нет простой синхронизации их разрядной активности “спайк в

спайк”. И по конфигурации (паттерну) разрядов, и по степени выраженности феномена поведенческой специализации, и по динамике его вариативности нейроны одной и той же функциональной системы существенным образом различаются между собой. Объективному описанию их совместной работы в наибольшей мере соответствует статистическое распределение вероятностей генерации определенных поведенчески-специализированных паттернов.

С этих позиций перед началом любого элементарного поведенческого акта на стадии афферентного синтеза происходит выбор не какой-то одной определенной программы генерации потенциалов действия. Всегда формируется большой набор различных версий, разных нейрональных трактовок предстоящей поведенческой активности. Соответственно, момент начала ее развертывания означает одновременный выход на стадию реализации **всех этих версий сразу**, которые (и это стоит подчеркнуть ещё раз) не дублируют друг друга, не совпадают “спайк в спайк”, а обладают выраженной индивидуальностью.

Соответственно, формирование нового поведенческого акта в процессе обучения связано с перераспределением частоты представительства отдельных параллельно реализуемых паттернов (различных нейрональных трактовок действия). Результат поведения выступает при этом в качестве фактора селекции не неких абстрактных “гипотез” [Dennett С., 1995], а набора вполне конкретных нейронных реализаций соответствующей функциональной системы.

Естественно возникает вопрос о синаптических механизмах интеграции такого рода нейрональных паттернов, специализированных в отношении одного и того же элементарного поведенческого акта. Как сходно, но не изоморфно активные нейроны, немешая друг другу, объединяют свои усилия в ходе решения ими общей поведенческой задачи? Какое значение при этом играет фактор цели действия? Наконец, как согласованно работающие нейроны мозга продуцируют идеальную (психическую) реальность?

РАЗДЕЛ III

ПРИНЦИПЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ НЕЙРООПЕРАНТНЫХ ГРУПП

Глава 1

Взаимосодействие как фактор стабильности меж- нейронных отношений

При рассмотрении поставленных выше вопросов нельзя обойти вниманием еще одну важную особенность организации нейронной активности в условиях, близких к естественным. Имеется в виду ее качественное своеобразие: кардинальное отличие нейрофизиологической феноменологии свободного поведения от того, что удается наблюдать в экспериментах на обездвиженных животных.

Особенно демонстративны в этом плане результаты сравнительного анализа вызванной нейронной активности, возникающей в ответ на контролируемый афферентный стимул, который предъявляется сначала в ситуации тестирования рецептивных полей (т.е. в условиях иммобилизации подопытного животного), а затем - в ходе развертывания инструментального поведения [Александров Ю., Гринченко Ю., 1986]. Как показывают полученные здесь данные, значительная часть нейронов, соответствующих критерию "нейрон-детектор" [Hubel G., Wiesel T., 1959], полностью утрачивают свои "детекторные" свойства после того, как животному предоставляется возможность выполнять целенаправленные приспособительные действия. Никаких ответных реакций у этих клеток в моменты самораздражения животным исследуемой рецептивной зоны в последнем случае уже не наблюдается. Зато возникает феномен поведенческой специализации. То есть, на аналогичных этапах поведения появляются закономерно повторяющиеся характерные фазные повышения разрядной частоты, не приуроченные к моментам соответствующей афферентной стимуляции.

Обращает на себя внимание очень высокий уровень стабильности такого рода поведенчески специализированных паттернов нейронной импульсации. И по своей структуре, и по степени выраженности они сохраняются не только при значительных изменениях параметров двигательной активности животного, но даже в случае кардинальной реорганизации некоторых основных условий достижения приспособительного результата [Александров Ю., Александров И., 1981; Карпов А., 1979]. Отсутствует и какая-либо специфически направленная динамика их изменения в ходе развертывания большого числа идентичных действий.

Если в свете этих данных реализацию стереотипных поведенческих актов рассматривать как последовательность аналогичных стимульных ситуаций, в которых оказывается животное, приходится признать явную парадоксальность нейрофизиологической феноменологии свободного поведения.

Действительно, в соответствии с основными результатами аналитических исследований, повторное предъявление одного и того же комплекса внешних раздражителей в условиях иммобилизации вызывает возникновение стабильных ответов лишь у относительно небольшой части регистрируемых в опыте нейронов. Для значительного же их числа характерным является постепенное снижение амплитуды ответных реакций [Бернс Б., 1969; Скребицкий В., 1970 и мн. др.]. Такого рода процесс "привыкания" отражает одно из наиболее выразительных качеств нервных клеток и наблюдается даже в случае прямой микроионофоретической аппликации возбуждающих нейромедиаторов [Котляр Б. и др., 1986] или при деполяризации клеточной мембраны [Соколов Е., 1970]. Весьма характерной для экспериментов, проводимых на обездвиженных животных, является и выраженная зависимость нейронных ответов от текущего функционального состояния организма, в частности, от уровня мотивационного возбуждения и его биологической модальности [Хяютин С., 1972].

При этом не может не вызывать удивления тот факт, что в литературе до сих пор не описано ни одного случая аналогичных изменений амплитуды фазных перестроек нейронной активности во время реализации автоматизированных форм целенаправленного поведения животных. Более того, несмотря на значительное число исследований, проведенных к настоящему времени в этом направлении, ни в одной публикации, насколько нам известно, не отмечалось постепенного снижения степени выраженности феномена поведенческой специализации нервной клетки в процессе удовлетворения пищевой потребности или при адаптации к электрокожному раздражению.

Эти и другие данные [Безденежных Б., 1983; Швыркова Н., 1984] закономерно приводят к парадоксальному, на первый взгляд, выводу о том, что предоставление подопытному животному возможности выполнять целенаправленные приспособительные действия, иницилируя тем самым неконтролируемую дестабилизацию функционального состояния организма и создавая непредсказуемо меняющийся фон обстановочной афферентации, приводит не к резкому повышению показателей вариативности соответствующих фазных нейронных активаций, а, наоборот, к аномально высокой стабилизации основных их параметров.

Один из немногих на сегодняшний день концептуальных подходов, способных дать ответ на этот ряд вопросов, связан с разработкой общей теории функциональных систем [Анохин П.К., 1935; 1968]. Согласно развиваемым здесь представлениям нейрофизиологическую основу поведения человека и животных составляют процессы формирования совершенно иных по своему компонентному составу центрально-периферических интеграций клеточных элементов, нежели те, которые можно объективизировать по критерию эффективного синаптического межклеточного взаимодействия (на что, собственно говоря, и обращается основное внимание при проведении аналитических исследований). Указанная форма взаимодействия рассматривается лишь как один из многих факторов, определяющих процесс во-

влечения отдельного компонента в состав соответствующей функциональной системы. Ведущий же принцип построения каждой такой интеграции определяется как принцип взаимосодействия всех ее составляющих на получение полезного для организма приспособительного результата. Вследствие этого именно результат становится императивным фактором, определяющим процесс устранения избыточного числа степеней свободы нервных клеток. Любые же другие системные детерминанты, включая пусковой стимул или доминирующую мотивацию, подобным свойством не обладают.

С этих позиций аномально высокая стабильность фазных перестроек нейронной активности в поведении на самом деле является проявлением свойств не одной, конкретно регистрируемой в опыте нервной клетки, а выражением согласованной деятельности большой группы клеточных единиц, объединенных в функциональную систему на основе принципа их взаимосодействия и образующих своего рода временный функциональный орган. Отличительной его особенностью является то, что индивидуальная активность каждого из составляющих этот орган клеточного элемента не только способствует продвижению всей системы по пути достижения общего результата, но и облегчает другим его компонентам выполнение аналогичной функции. Интегральный эффект такого рода внутригрупповой взаимоподдержки и проявляется в виде достижения аномально высоких уровней стабильности работы отдельных элементов и всей их системы в целом. Пользуясь современной терминологией, можно сказать, что в данном случае речь идет о явлении нейросинергизма, когда каждый элемент группы, привнося свой индивидуальный микровклад в дело получения общего результата, параллельно с этим облегчает реализацию аналогичных привнесений другими членами интеграции.

То, что формирование функциональных систем происходит именно по указанному сценарию, было предсказано ещё в 1970-х годах. "Системой, - писал в связи с этим

П.К.Анохин, - можно назвать **только такой** комплекс избирательно вовлеченных компонентов, у которых взаимодействие и взаимоотношение приобретают характер **взаимодействия** компонентов на получение фокусированного полезного результата” [Анохин П.К., 1971, С.28] (выделено мной - Л.Б.).

Однако, хотя изучение данного явления и было начато свыше 30 лет назад, вопрос о лежащих в его основе механизмах и сегодня остается открытым. Одна из причин этого, на наш взгляд, состоит в ошибочности попыток ограничить рассмотрение феномена **взаимодействия** центрально-периферических компонентов организма исключительно его рефлекторной трактовкой. Типичный пример: процесс гетеросинаптической фасилитации, который заключается в том, что приход определенной посылки по одному из синаптических входов нервной клетки облегчает возникновение ответной ее биоэлектрической реакции на медиаторный стимул, поступающий через соседние синапсы [Кэндал Э., 1980]. В данном случае активность группы нейронов, синаптически конвергирующих к одной и той же нервной клетке, облегчает реализацию функции ее реагирования на другие (в том числе и подпороговые) сигналы.

Нисколько не умаляя значение подобных исследований, следует отметить, что речь здесь идет лишь об одном из возможных вариантов проявления феномена межнейронного **взаимодействия**. Представленные в предыдущих главах данные, с нашей точки зрения, позволяют сегодня говорить как минимум о еще одной форме построения этого процесса – форме, основанной не на реакционном, а селекционном принципе детерминации нейронной активности (рис.13, рис.26). В последнем случае облегчение процесса достижения индивидуального результата каждым элементом системы может быть связано с влиянием других компонентов на процесс **выбора** им наиболее эффективного **паттерна предстоящей активности** - паттерна, который с максимальной вероятностью в случае своей реализации способен привести к достижению индивидуального и обще-

го полезного приспособительного результата. Здесь уже влияние других членов группы на отдельный клеточный элемент становится опосредованным особым информационным (не материальным) фактором. В данном случае имеется в виду точная трактовка понятия информации: не как передаваемого по линии связи сообщения, а как “меры снятой неопределенности системы” [Шеннон К., 1963].

Экспериментальное рассмотрение этих процессов, несомненно, сопряжено с колоссальными трудностями. Одна из них связана с необходимостью контроля в опыте надкомпонентных переменных, способных выступать в роли детерминант селекционной активности. На первый взгляд, сегодня не возможно даже в общих чертах представить себе детали проведения такого рода экспериментов.

Для выяснения возможных путей решения данной проблемы в качестве первого шага имеет смысл рассмотреть особенности группового поведения не нейронов, а значительно более простых с точки зрения психофизиологического анализа объектов – людей, способных давать интроспективные оценки происходящим внутри системы событиям.

Понятно, что при интерпретации результатов здесь возникает определенная опасность приписывания биологическим явлениям свойств, характерных только для социальных групп. Поэтому сразу надо сказать, что в данном случае речь пойдет лишь об определенных аналогиях, проведение которых необходимо для формулировки в дальнейшем задачи конкретного нейрофизиологического исследования.

Руководствуясь этими соображениями, нами была разработана специальная модель, которая включала в себя особую биотехническую функциональную систему, воспроизводящую явление информационного взаимодействия оперантов-операторов (людей).

Глава 2

Взаимодействие как фактор возникновения над-компонентной идеальной реальности

В рамках экспериментального рассмотрения поставленных вопросов проводился анализ способности человека эффективно взаимодействовать с партнерами, входящими в состав группы, формируемой для решения определенных задач логической или когнитивной направленности.

В качестве управляющего устройства нами был выбран аналог ранее уже описанной конструкции джойстика с обратной связью [Боксер О., 1983].

Принципиальное отличие разработанного нами приборного комплекса от других аналогичных технических устройств [например, Боксер О., Аксюта Е., 1972] заключалось в том, что каждый из партнеров принимал активное участие в решении общей задачи не на отдельных её этапах, а на всех без исключения стадиях. Для формирования тесной функциональной взаимозависимости индивидуальных действий вместо фиксированного поля межкомпонентных связей используют его динамический аналог, формирующийся путем соединения джойстиков всех членов группы в единую систему, таким образом, что в результате образуется общее мультикурсорное поле, отражающее текущее взаиморасположение всех курсоров и в зависимости от этого определяющее величину индивидуальных сигналов обратной связи, идущих на сервомоторы джойстиков и вызывающих их торможение с величиной, прямо пропорциональной амплитуде отклонения соответствующего курсора от области максимального сосредоточения в данный момент времени курсоров других членов группы.

Методика

Определение эффективности предлагаемого устройства проводилось в рамках определения хронореакциометрических показателей группы лиц, состоящей из восьми

испытуемых, выполняющих тест на логическое обобщение. Для этого всем членам группы одновременно предъявлялось одно и то же, выбираемое в случайном порядке слово (существительное), после чего они должны были максимально быстро и точно переместить курсор своего джойстика из нижнего центрального положения поля своего монитора в верхнюю его часть, где веерообразно располагались “цели” (обобщающие понятия, представленные в графической форме). В случае правильного решения на экране каждого компьютера появлялся соответствующий сигнал (“+”). На рис.45 изображена схема устройства для проведения тестирования.

Схема содержит: линии соединения аналоговых выходов джойстиков 1 с двумя устройствами сбора данных 2 (K572ПВ4), в состав каждого из которых входят: аналоговый мультиплексор АМП для последовательного переключения восьми аналоговых входов, аналого-цифровой преобразователь АЦП, статическое ОЗУ объемом 64 бита (организация 8x8) для хранения результатов преобразования по каждому из каналов, выходной буферный регистр БР, схема управления СУ с последовательным опросом каналов. Для формирования сигналов системы обратной связи используются: генератор тактовых импульсов 3, схема управления 4 адресными шинами, делитель частоты 5 тактовых импульсов “х1/9”, два блока D-триггеров 6 для хранения промежуточной информации в процессе каждого цикла опроса, два цифровых компаратора 7, обеспечивающих сравнение четырехзначных двоичных чисел, выходной мультиплексор 8, восемь логических элементов “3-или-не” (элемент Пирса) 9, восемь счетчиков импульсов 10, восемь цифроаналоговых преобразователей 11 с ключевыми устройствами 12 для подключения их выходов к сервомоторам джойстиков 13.

Устройство работает следующим образом. Аналоговые сигналы, идущие от джойстиков 1 всех членов группы и отражающие координаты “X” и “Y” каждого из восьми курсоров, поступают на входы двух микросхем K572ПВ4, которые

начинают синхронно производить последовательный выбор и опрос канала с последующим преобразованием входного напряжения.

В течение всего периода преобразования для каждого из восьми каналов, цифровая информация хранится в ОЗУ. Это обеспечивает прямой доступ к оперативной памяти в

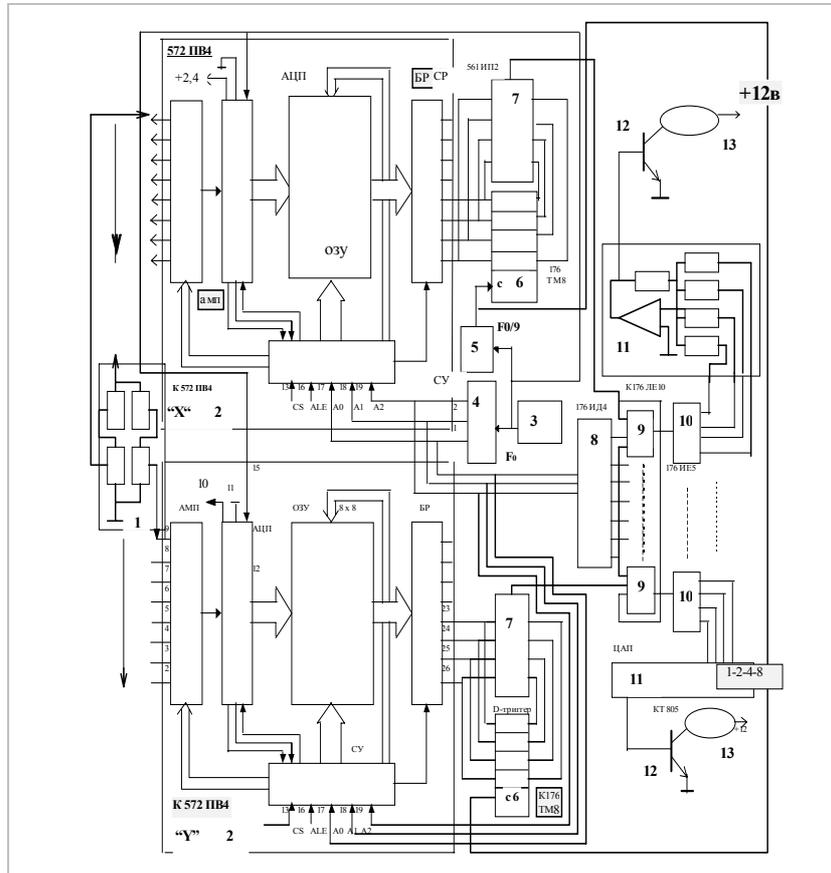


Рис.45. Устройство для моделирования группового поведения операторов, занятых решением общей задачи с едиными начальными и конечными условиями.

любой из моментов времени. Последующая смена данных в ОЗУ происходит в конце каждого цикла преобразования, задаваемого тактовым генератором 3 и делителем 4 частоты "x1/9". Адрес выбора канала определяется в соответствии с значением цифрового кода, записанного в адресные шины А0 - А2 (выводы 17-19).

В период между двумя циклами преобразования с тактовой частотой F_0 происходит опрос всех каналов и формирование микросхемами 7 импульсов совпадения, которые через мультиплексор 8 подаются на счетчики 10, а затем через цифроаналоговые преобразователи 11 и электронные ключи 12 на сервомоторы 13 джойстиков. В результате сила торможения ручки каждого джойстика оказывается пропорциональна амплитуде отклонения соответствующего курсора от области максимального сосредоточения в данный момент времени курсоров всей остальной группы.

Необходимо особо отметить, что никто из участников не имел возможности зрительно наблюдать и оценивать общую картину текущего состояния мультикурсорного поля. Каждый мог визуально отслеживать положение только одного - своего собственного курсора на экране своего же персонального компьютера. Более того, операторы находились в разных помещениях и, как правило, даже ничего не знали о конкретном персональном составе участников своей группы.

Продолжительность одного сеанса тестирования составляла 30 минут, в течение которых всем операторам синхронно, с частотой 10 тестов в минуту предлагалось решить серию простейших задач на логическое обобщение. Выполнение каждого теста, как правило, занимало несколько секунд. Число повторений в рамках 30-ти минутного сеанса одного и того же вопроса не превышало 3-5 раз. Исключение составлял лишь один специально выбранный, более сложный тест, предполагающий возможность альтернативных вариантов ответа. Общее число его предъявлений группе достигало 40 за сеанс, что являлось необхо-

димым условием проведения в дальнейшем полноценного статистического анализа. Причем, первые 20 предъявлений этого теста приходились на первую половину опыта, когда члены группы работали хотя и синхронно, но не могли оказывать никакого влияния на действия друг на друга. Устройство (рис.45) в этот период было отключено, а на сервомоторы всех джойстиков подавалось постоянное напряжение торможения низкого уровня.

Вторая часть предъявлений выбранного теста (тоже 20 шт.) осуществлялась в заключительные 15 минут эксперимента, т.е. уже после включения устройства (рис.45) и, как следствие, при появлении всех необходимых предпосылок развития нестимульных (оперантно - детерминированных) форм межкомпонентного взаимодействия. В связи с этим важно отметить, что в данный период времени, как и на предыдущем этапе, каждый участник группы сохранял возможность в любой момент произвольно определять в каком именно направлении, с каким усилием, и с какой скоростью ему следует перемещать ручку джойстика. Но при этом у него появлялась непрерывно меняющаяся кинестетическая подсказка правильного, с точки зрения других участников группы, варианта индивидуального поведения на всех последовательных этапах решения задачи.

Результаты исследования и их обсуждение

При обработке полученных данных основной акцент делался на результатах сравнительного анализа поведенческих характеристик одного, специально выбранного и чаще других предъявляемого теста. Конкретно определялся: процент ошибочных его решений; скорость решения; средняя величина тока торможения, подаваемого на сервомотор джойстика в ходе реализации теста и отражающего степень согласованности действий членов группы; вариативность циклограмметрических показателей двигательной активности с учетом параметров "координаты-время".

В ходе тестирования различных (но, непременно, од-

народных по составу) групп было установлено, что переход от первого этапа эксперимента ко второму сопровождается возникновением однонаправленных изменений всех перечисленных выше показателей. Прежде всего, наблюдается статистически достоверное снижение числа ошибочных действий и возрастание средней скорости решения задачи. Кроме того, при переходе от стадии индивидуального поведения к взаимосвязанной групповой деятельности уменьшается суммарный объем физических усилий, которые затрачивает каждый участник для достижения соответствующего результата. И, наконец, резко снижаются показатели вариативности двигательной активности операторов: происходит стабилизация траекторий перемещения курсоров джойстиков от исходной их позиции на экране монитора к конечному положению.

Общий вывод, который можно сделать по результатам проведенного анализа, состоит в том, что при достижении определенной “плотности” взаимодействия между операторами, занятыми решением одной и той же задачи с едиными начальными и конечными условиями резко повышается эффективность и стабильность выполняемых ими действий.

Весьма характерные проявления отмечаются при этом и на уровне субъективных оценок испытуемых. Судя по результатам интроспективного анализа, в такие периоды у всех участников группы возникает устойчивое, кинестетически выраженное ощущение наличия “коридора” оптимальных траекторий выполняемого действия. Появляется уверенность в существовании детально продуманной кем-то, точно выверенной программы решения задачи. На самом же деле, никакого специального аппарата экстренной корректировки двигательной активности, оптимизации ее параметров здесь не было. Ни в памяти компьютера, ни в памяти отдельных членов группы какая-либо дополнительная система команд, связанная с новой, более совершенной формой организации их индивидуальных и коллективных действий не создавалась. Единственным материаль-

ным носителем этой особой надкомпонентной, управляющей поведением реальности было не что иное, как сам процесс коллективной деятельности. И, поскольку в данном случае само действие продуцирует в режиме “ex tempo” аппарат своего управления и совершенствования в процессе повторных реализаций, мы с полным основанием можем говорить здесь о возникновении явления **самоорганизации целенаправленной деятельности**.

Для контролируемого воспроизведения и объективного анализа подобных процессов, как выяснилось, необходимо соблюдение следующего ряда условий:

1) вовлеченность оператора-исследователя в процесс коллективного решения общей задачи. Сторонний наблюдатель, находящийся вне этого процесса, в принципе не может разобраться в сути происходящих здесь событий;

2) коллективный характер деятельности;

3) общность начальных и конечных условий решаемой всеми задачи;

4) достаточно большое число участников группы;

5) “интеллектуальная” однородность состава группы (возраст, пол, уровень и профессиональная основа образовательной подготовки и т.п.). Наилучшие результаты в этом плане получаются, когда в качестве аналога партнеров группы выступает одно и то же лицо, представленное совокупностью предыдущих своих индивидуальных решений этой же самой задачи (метод накопления последовательных реализаций).

Способность групповых целенаправленных действий к самоорганизации закономерно приводит к постановке вопроса о том, как лежащие в основе этого явления психофизиологические механизмы соотносятся с классической схемой программной детерминации поведения. Действительно, согласно общепринятым представлениям началу любого поведенческого акта всегда предшествуют: процесс выбора конкретной цели предстоящего действия, формирование его программы и акцептора результатов действия (АРД). После достижения результата осуществляется про-

цесс сличения его параметров с прогнозируемыми в АД [Анохин П.К., 1971].

В рассматриваемом же нами случае возникает совершенно иная картина. Характерной ее особенностью является не только появление идеальных надкомпонентных переменных, не зафиксированных ни на каких материальных носителях, но, вместе с тем, оказывающих кинестетически выраженное направляющее влияние на поведение. Не менее примечательным является и то, что возникающий столь экзотическим образом инструмент управления коллективно-индивидуальными действиями уже перестает быть продуктом специальной подготовительной стадии - стадии афферентного синтеза и принятия решения. Непрерывно идущим процессом его формирования становится само исполнительное действие.

Какое место в рамках внутренней операциональной архитектоники функциональной системы (рис.26) занимает этот механизм? Является ли его возникновение особенностью лишь групповых целенаправленных действий? Или же речь идет о более общей психофизиологической закономерности? Если да, то каковы границы ее проявления?

Надо прямо сказать, что все эти вопросы и в настоящее время чрезвычайно далеки от своего решения, хотя определенные предположения о возможности существования подобных (не программных) механизмов детерминации целенаправленного поведения ранее уже неоднократно высказывались. Утверждения на этот счет можно встретить в работах В.Вундта [1912]; А.А.Ухтомского [1978]; Н.А.Бернштейна [1947]. В наиболее же последовательной форме они получили свое развитие в рамках предложенной А.Н.Леонтьевым [1956, 1972] концепции функциональных органов индивида.

Согласно основным положениям разработанной им теории, процесс онтогенетического (индивидуального) развития человека сопровождается формированием у него особых, морфологически детерминированных новообразований, которые, обладая внутренним свойством самоорга-

низации, способны функционировать как единое целое, реализуя свое влияние в ходе решения тех или иных поведенческих задач. Специфические отправления именно этих органов и выступают в виде проявляющихся психических (идеальных) способностей или функций.

Проведенные А.Н.Леонтьевым и его учениками исследования позволяют утверждать, что функциональные органы индивида имеют выраженную деятельностную природу. Они продуцируются в ходе овладения человеком созданных другими людьми предметами и связанными с их использованием двигательными навыками. При этом особо отмечается не только деятельностный, но и “экстрацеребральный” характер подобных новообразований. С этих позиций действие, рассматриваемое как особый орган, нельзя полностью редуцировать к кинематическим цепям, скелетной мускулатуре, эффекторным командам и проприоцепторной афферентации - в нем всегда обязательно останется что-то еще сверх этого [Леонтьев А., 1981].

Анализируя основные закономерности возникновения и функционирования таких органов, А.Н.Леонтьев выделял следующий ряд присущих им специфических качеств:

1) свойство единства, заключающееся в том, что раз сформировавшись, они сохраняются далее как единое образование;

2) относительная прочность, которая особенно отчетливо проявляется при сравнении динамики угашения условных рефлексов и дезинтеграции функциональных органов индивида;

3) очень высокий уровень их надежности, способность к широкой замене одних компонентов другими таким образом, что вся система в целом продолжает работать как единое образование.

Принципиально важным шагом на пути развития разработанной А.Н.Леонтьевым концепции стало распространение основных ее положений на уровень сознательного поведения людей. В рамках решения этой задачи был обоснован общий вывод о том, что “экстрацеребральная”

составляющая целенаправленной деятельности человека не только формируется как продукт социальной активности, но и будучи уже сформированной, легко поддается дальнейшему “обобществлению”. В этом случае можно говорить о трансформации индивидуального знания в знание совместное (“сознание”). Инструментом же такого рода трансформации как раз и выступают различные коллективные формы поведения.

В свете этих представлений, возникновение в рассматриваемом нами случае надкомпонентной идеальной реальности, направляющей групповые и индивидуальные действия, является теоретически предсказуемым выводом. Следуя представлениям А.Н.Леонтьева здесь мы просто сталкиваемся с одной из возможных форм проявления универсальной психофизической закономерности, отражающей общее свойство любых многокомпонентных систем, элементы которых наделены способностью взаимодействовать друг с другом на получение единого полезного результата.

При этом достаточно четко вырисовывается и ответ на вопрос о том, какое место в рамках внутренней операциональной архитектоники функциональной системы занимает процесс самоорганизации целенаправленных действий. Рассмотренные выше соображения позволяют утверждать, что свойство целенаправленности и системная форма его проявления (рис.26) распространяются на очень широкий круг качественно различных явлений Природы. Процесс психической детерминации поведения человека и животных является лишь частным случаем этой универсальной общебиологической закономерности.

Как уже отмечалось в предыдущем разделе, способностью к целенаправленной активности обладают даже отдельные макромолекулы. Механизм же психической регуляции поведения предполагает его построение только на основе принципа взаимодействия большой группы взаимосвязанных нейрооперантов, идентичных по характеру своей поведенческой специализации. И проявляется ука-

занное свойство прежде всего в том, что в ходе решения какой-либо задачи с едиными начальными и конечными условиями каждый элемент системы своим участием в этом процессе не только привносит определенный микро вклад в достижение необходимого суммарного эффекта, но и облегчает своей активностью процесс привнесения таких же аналогичных микро вкладов другими участниками. Именно и только в этом случае возникает феномен самоорганизации соответствующего поведенческого акта, сопровождающийся появлением надкомпонентных (идеальных) переменных, регулирующих данный процесс.

В результате, даже в стабильных внешних условиях, в ходе последовательных реализаций действия развивается процесс его самосовершенствования. И происходит это не вследствие все более и более тонкой программной проработки поведения. Решающую роль здесь начинает играть особая форма активности, направленная “внутрь системы” и связанная с процессом совершенствования механизма взаимодействия соответствующих нейрооперантных групп.

Исключительно важная роль этого механизма становится особенно очевидной в свете обоснованной Н.А.Бернштейном [1935; 1947] системы представлений о невозможности построения координированных целенаправленных действий на основе процесса их программной детерминации. Как показал проведенный им анализ, особенности морфологического строения исполнительных органов млекопитающих неизбежно делают каждый такой орган принципиально неуправляемым со стороны командных центров. По этой причине никакая детерминированная до начала действия система эффекторных команд, идущих от мотонейронов к мышцам, не способна создавать воспроизводимые двигательные эффекты на периферии. Прямым следствием такой (программной) формы построения действия является его вариативность и, в конечном счете, полная дискоординация.

К числу наиболее значимых факторов, вызывающих

неизбежные отклонения и сбои в ходе реализации любых форм двигательной активности относятся:

1) **инерционные силы**, возникающие в звеньях кинематической цепи во время их перемещений. Так, при беге движение выносимой вперёд ноги происходит преимущественно за счет влияния сил инерции, т.е. предположительно в отсутствие поступающих к ее мышцам эффекторных команд;

2) **реактивные силы**. Их возникновение обусловлено механизмом физической “отдачи”, что особенно отчётливо проявляется во время выполнения резких движений конечностями. Характерный пример: потеря равновесия при сильном ударе ногой по мячу на скользкой поверхности;

3) **внешние силы**. Любые действия, связанные с манипулированием каким-либо предметом, непременно встречаются с его сопротивлением. Последнее же меняется в ходе движения, как правило, непредсказуемым образом и не может быть заранее отражено в его программе;

4) **исходное состояние мышц**, непрерывно изменяющееся по ходу действия и зависящее от их длины, степени утомленности, температуры окружающей среды и т.п. В результате, одна и та же система эффекторных команд вызывает разную картину их сокращения.

Все перечисленные факторы вносят неизбежные отклонения в запланированный ход движения, сами же при этом не поддаются предварительному учёту. Как следствие, решение поставленной поведенческой задачи может быть достигнуто только в том случае, если во время реализации действия в него постоянно будут вноситься экстренные поправки, компенсирующие влияние указанных факторов.

В свете этих представлений любые, даже полностью автоматизированные поведенческие акты характеризуются неизбежной вариативностью всех своих циклограмметрических показателей. Последовательности таких действий всегда соответствует не одна, строго определенная траектория в системе координат “пространство-время”, а определен-

ный их набор, образующий особый “канал” допустимых неконтролируемых перемещений. Соответственно, процесс совершенствования действий при обучении связан не с выбором одной наиболее оптимальной траектории двигательной активности, а с постепенным сужением “коридора” их возможного разброса. И процесс этот обусловлен развитием специального комплекса механизмов сенсорного корригирования.

Одна из первых предложенных Н.А.Бернштейном [1935] нейрофизиологических моделей основывалась на принципе “рефлекторного кольца”, в котором афферентная сигнализация об отклонении от “идеальной” траектории непосредственно запускала систему соответствующих команд исправления. Но достаточно скоро выяснилось, что такая схема содержит очевидное противоречие. Действительно, если морфологические особенности исполнительных органов исключают возможность управления ими на основе фиксированных эффекторных команд, то и корректирующая афферентация по этой же причине не способна сама по себе обеспечить воспроизводимые двигательнокорректирующие эффекты. Генерируемые ею поправки всегда будут столь же вариативны и непредсказуемы, как и последствия влияний системы стабильных эффекторных команд.

Поэтому в дальнейшем Н.А.Бернштейном был разработан модифицированный вариант исходной модели - вариант, предполагающий наличие особого аппарата (“модель потребного будущего”), обеспечивающего трансформацию корректирующей афферентации в систему исправленных эффекторных сигналов.

Именно такая трактовка построения целенаправленных действий и рассматривалась А.Н.Леонтьевым в рамках его концепции функциональных органов индивида. Особое внимание при этом обращалось на непрограммный характер двигательной активности и, как следствие, наличие специального центрального психофизиологического аппа-

рата управления ею.

Однако в те годы, когда формулировались основные положения этой теории, конкретная субстратная основа такого рода образований оставалась совершенно не ясной. Лишь к середине 1980-х годов достаточно отчетливо начала вырисовываться общая направленность решения стоящих здесь проблем. Становилось все более ясным, что основной акцент проводимых исследований необходимо сделать на изучении именно явления поведенческой (системной) специализации нейронов головного мозга человека и животных.

Действительно, если сопоставить рассмотренные в предыдущих главах различные функциональные свойства этих нейрональных групп, все они полностью соответствуют критериям, сформулированным А.Н.Леонтьевым при определении основных характеристик компонентов функциональных органов. Как уже отмечалось, паттерны разрядной активности таких нейронов обладают поразительно высоким уровнем устойчивости. Динамика их угашения кардинальным образом отличается от динамики торможения условных рефлексов. Обращает на себя внимание и факт колоссальной избыточности нейронов, обладающих идентичными формами системной специализации. А уж об уровне компенсационных возможностей (потенциал внутренней устойчивости) и говорить не приходится. К этому стоит также добавить, что феномен системной специализации нейронов проявляется только в период развертывания целенаправленной деятельности и никогда более. Во все другие моменты времени особый функциональный статус этой группы клеток объективизировать не возможно. Т.е. данное нейрофизиологическое явление обладает выраженным свойством деятельностиной специфичности.

Открытым остается пока только один вопрос: обладают ли подобные клетки способностью к формированию оперантно - детерминированных паттернов разрядной активности. Могут ли нейроны мозга в процессе взаимодействия друг с другом выступать в качестве именно нейроопе-

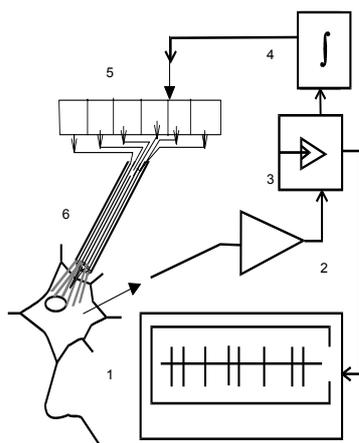
рантов - элементов, влияние которых друг на друга подчиняется не принципу “стимул-реакция”, а “закону эффекта”?

Этот же вопрос можно сформулировать и несколько иным образом, а именно: являются ли клетки центральной нервной системы всего лишь элементами в цепи проведения нервного возбуждения? Или же их следует рассматривать в качестве самостоятельных биологических единиц, своего рода, “организмов в организме” [Васильев Ю.М., 1969; Александров В.Я., 1970; Бобровников Л., 1996 б], способных к построению нестимульных (оперантно-детерминированных) форм межкомпонентного взаимодействия?

Глава 3

Анализ синаптических процессов на основе методики многоканального биоуправляемого микроионфореза

Один из наиболее простых вариантов реализации модели группового поведения нейрооперантов сводится к следующему (рис.46). Импульсная биоэлектрическая активность отдельных нейронов головного мозга исследуется в условиях, когда определенное спонтанное возрастание частоты их разрядов подкрепляется одновременным подведением из нескольких стволов 12-ти канального хемотрода определенного биологически активного вещества,



связанного с реализацией медиаторной функции [Бобровников Л., 1986 а, б; Bobrovnikov L., 1991].

Выбор методики микроионфореза в данном случае обусловлен генерализованным характером подведения вещества, т.е. возможностью моделирования ситуации образования аналога "мультикурсорного роя" - множественных синхронных нейрохимических воздействий, поступающих от

большого числа пресинаптических клеток (рис.47).

Рис.46. Схема, иллюстрирующая принцип исследования нервной клетки в условиях биохимического подкрепления определенных паттернов её разрядной активности. 1- нейрон, 2- усилитель биопотенциалов, 3- триггерное устройство, 4- интегратор, 5- блок программируемых источников микротока, 6- многоканальный хемотрод.

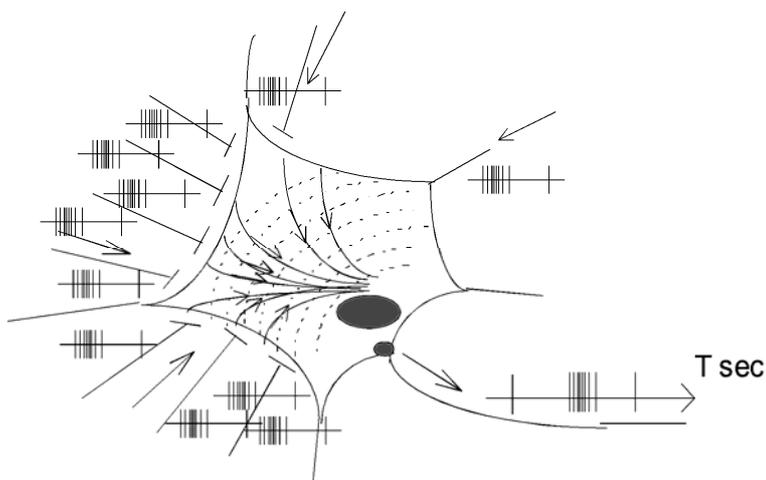


Рис.47. Модель поведения нервной клетки в составе группы согласованно работающих нейрооперантов, воспроизводящих ситуацию нейромедиаторного "роя".

Характер наблюдаемых в этом случае функциональных изменений позволяет на основании объективных показателей делать вывод о способности нейронов различных структур мозга к формированию в подобных ситуациях клеточного аналога инструментальных реакций, а также оценивать свойства тех или иных органических соединений как потенциальных факторов возникновения оперантно-детерминированных форм межклеточного биохимического взаимодействия.

Методика

Эксперименты проводили на бодрствующих, мягко фиксированных за конечности животных (кроликах). Для регистрации разрядной активности нейрона и микроионофоретической аппликации применяли коаксиальные 12-ти канальные стеклянные хемотроды специальной конструкции. 11-ти канальный капилляр, изготовленный по методике [Perrett D., Rolls E., 1985], совмещали под микроскопом с

регистрирующим стеклянным электродом. Последний фиксировали эпоксидным клеем в центральном канале многоствольной заготовки таким образом, что его кончик (диаметром около 0,5 мкм) выступал вперед по отношению к остальным 11 каналам на 10-20 мкм.

Заполнение стволов хемотрода осуществляли непосредственно перед началом опыта с помощью полихлорвиниловых микрокатетеров. Необходимое для реализации такого способа стекловолочно заранее фиксировали в соответствии с методикой [Белый В., Шерстнев В., 1983] внутри исходных заготовок. Центральный регистрирующий электрод заполняли раствором натрия хлорида (3 моль/л). Для регистрации разрядной активности нейронов применялся магнитофон марки "Брюль и Кьер-7003" (Дания). В ходе эксперимента с помощью специально разработанного устройства [Бобровников Л., 1983 а,б] осуществлялся непрерывный контроль средней частоты импульсации нервной клетки. Это же устройство (рис.48) позволяло производить автоматическое включение источника микротока по заданной программе.

За два дня до опыта осуществляли скальпирование животных. Со свода черепа удаляли мягкие ткани и надкостницу, затем раневую поверхность обрабатывали антисептическими растворами.

Перед началом эксперимента над областью предполагаемого введения хемотрода проводили трепанацию кости черепа и удаление твердой мозговой оболочки. Координаты места трепанации определялись по атласу Monnier M., Gangloff H., 1961. Для уменьшения пульсаций ткани мозга трепанационное отверстие заполняли коллоидным раствором агар-агара. После этого на черепе животного при помощи жидкой пластмассы (норакрил-100) укрепляли миниатюрное устройство для подведения многоствольных микропипеток [Андрианов В., 1993]. Рядом с ним устанавливался держатель с предварительным усилителем биопотенциалов.

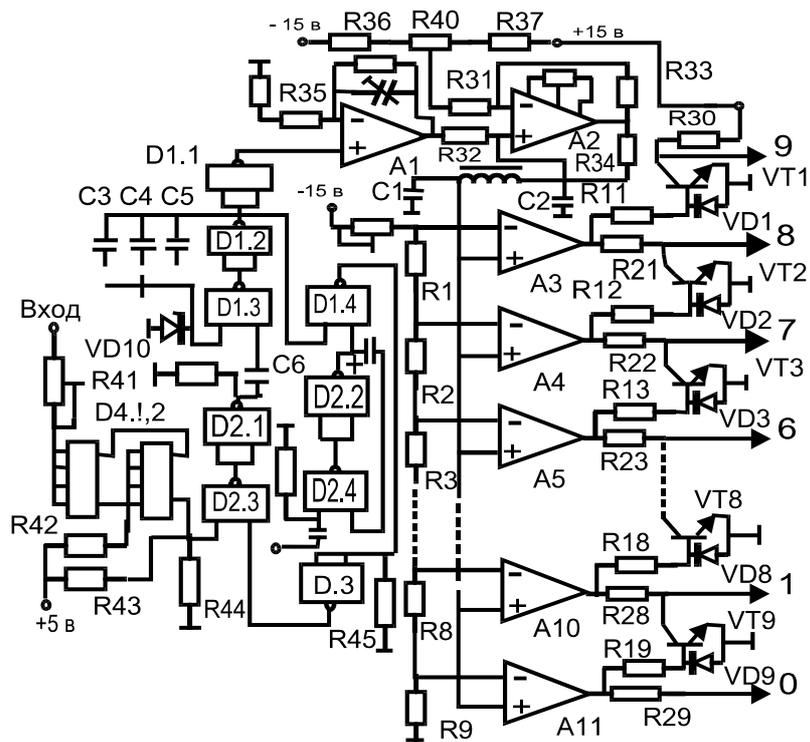


Рис. 48.

Принципиальная схема аналогоцифрового преобразователя с интегрирующим устройством на входе. А1 - А11 К140 УД6; VT1 - VT9 КТ 312А; VD1 - VD9 2D 503; D1 - D3 555 ЛА3; D4 155 ЛП; D10 КС139А; R1 - R9 200 ом; R11 - R19 15 к; R21 - R30 3 к; R31 - R34 510 ом; R35 47 к; R36 - R37 1,8 к; R40 22 к; R41 1к; R42 51 ом; R43 - R44 2 к; C1 10 мкф; C2 20 мкф; C3 1 мкф; C4 3 мкф; C5 10 мкф; C6 510 пф.

В настоящей работе рассматриваются результаты только одного из возможных вариантов реализации разработанной нами экспериментальной модели, а именно, исследования нейронной активности в условиях микроионофоретического самоподведения нервной клеткой L-глутамата. Раствором этого вещества (конц. 2 моль/л) за-

полняли несколько (как правило, **шесть**, через один - "пустой") боковых стволов хемотрода. Микроионофоретическое подведение производили **одновременно** из всех этих каналов. Суммарная величина тока фореза (отрицательной полярности) составляла 30-50 нА, удерживающего тока (положительной полярности) - 5 нА.

При выборе данного вещества учитывался фактор многофункциональности глутамата, его широкое участие в различных биохимических внутриклеточных реакциях, в частности, то, что, помимо медиаторной функции, он является промежуточным продуктом при синтезе и распаде аминокислот и других азотистых соединений.

Для борьбы с электрическими помехами, неизбежно возникающими в усилительном каскаде в моменты переключения источников микроионофореза и вызывающих его самовозбуждение, было разработано специальное устройство разделения во времени потоков регистрируемой импульсной нейронной активности и артефактов подведения вещества (см. Приложение 2, 3).

Основной принцип работы этого устройства можно понять из рис.49. Как видно, каждый раз в период абсолютной рефрактерности (полной невозбудимости) нейрона автоматически вырабатывался сигнал ТТЛ логики (рис.49 Б), длительностью 1 мс, подача которого на один из входов элемента сравнения "И-НЕ" (ИМС D2.3 на рис.48) блокировала прохождение биоэлектрического сигнала в указанный микровременной интервал. Именно в такие моменты времени и осуществлялись все переключения (включения и выключения) источников микроионофоретического тока. Неизбежно возникающие при этом короткие электрические артефакты "отсекались" на входе элемента "И-НЕ".

Согласно условиям проведения экспериментов первоначально в течение 6-12 минут регистрировали "фоновую" разрядную активность каждой клетки. При этом определялись минимальное и максимальное значения частоты ее импульсации.

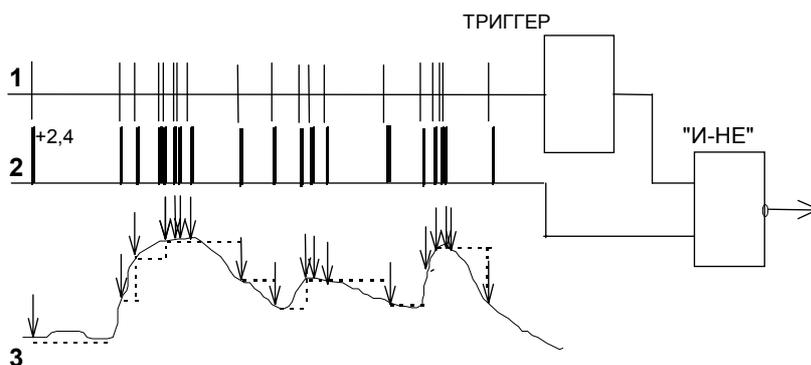


Рис.49. Схема, иллюстрирующая основной принцип устранения артефактов в режиме биоуправляемого микроионофореза: все включения и выключения источников микротока автоматически производятся только в период абсолютной рефрактерности нервной клетки и в этот же период каждый раз на короткое время автоматически отключается входной каскад регистрирующего устройства. 1- нейрограмма; 2- сигналы ТТЛ- логики, блокирующие прохождение артефактов от микроионофореза; 3- аналоговый сигнал на выходе интегратора (стрелками указаны моменты потенциального переключения источников микротока).

Затем проводили оценку "химической чувствительности" исследуемого нейрона к L-глутамату. С той целью 10-20 раз (в среднем через каждые 20-50 сек) осуществляли двухсекундное микроионофоретическое подведение вещества, после чего еще 6-12 минут продолжалась регистрация "фоновой" активности той же клетки. На следующем этапе эксперимента аппликация L-глутамата производилась уже в автоматическом режиме в момент достижения максимального уровня "фоновой" частоты разрядной активности нейрона. Длительность периода микроионофореза и в этом случае составляла 2 сек. Если в последующий период времени происходило снижение частоты импульсной активности нейрона до ранее установленного минимального

уровня в "фоне", а затем вновь ее возрастание до соответствующего максимального значения, осуществлялось повторное двухсекундное подведение L-глутамата и т.д. Продолжительность этого этапа, который представлял собой определенную модификацию одного из наиболее известных вариантов биоуправляемых экспериментов с подкреплением на системном уровне [Fetz E., Finicchio D., 1973], составляла 20-30 минут.

Результаты исследования и их обсуждение

Как уже отмечалось, в рамках рассматриваемого варианта построения функциональной биотехнической системы [Боксер О., 1994; 2000] получение нервной клеткой определенного химического вещества ставилось в прямую зависимость от наличия у нее характерной "вспышкообразной" формы разрядной деятельности. Поэтому при анализе полученных данных основной акцент делался на сравнении количества соответствующих вспышек импульсации в период отведения "фоновой" активности и в условиях биоуправляемого эксперимента.

При выборе именно таких подкрепляемых параметров нейронной активности мы ориентировались на результаты ранее проведенных исследований [Fetz E., Baker M., 1973 и др.]. Как известно, в этих работах изучались нейроны различных отделов коры головного мозга млекопитающих, в условиях, когда "вспышкообразная" активность регистрируемой клетки подкреплялась порцией пищи, которую получало подопытное животное. Было установлено, что в рамках такой экспериментальной модели более чем у 40% корковых нейронов закономерно происходит реорганизация паттерна их разрядов, вследствие чего частота включений кормушки резко увеличивается. Это давало основания ожидать, что и в нашем случае процедура оперантного обусловливания аналогичного паттерна нейронной активности позволит достаточно отчетливо выявить наличие или отсутствие характерных пластических перестроек разряд-

ной деятельности нервных клеток. Достоверность результатов оценивали по критерию Стьюдента (уровень значимости $p < 0,05$).

Установлено, что у значительной части нейронов сенсорной области коры головного мозга в условиях микроионофоретического самоподведения L-глутамата происходит изменение их разрядной деятельности, следствием чего является стабильное увеличение или, наоборот, снижение частоты аппликаций данного вещества. Подобные перестройки отмечались у 65% зарегистрированных нейронов. 27% из них статистически достоверно снижали, а 38% - увеличивали частоту включений источника микроионофореза. В качестве иллюстрации на рис.50 приведен пример одного из нейронов последней группы. В его "фоновой" активности достаточно редко ($1,5 \pm 0,4$ в минуту) наблюдались потенциально эффективные вспышки импульсации. В условиях же биоуправляемого эксперимента (через 6 минут после его начала) в разрядной деятельности нейрона начинали закономерно отмечаться ранее не характерные для него периоды вспышкообразной активности. При этом частота включений источника тока фореза достигала аномально высокого уровня $8,1 \pm 0,3$ в минуту (рис.51).

Особого внимания заслуживает тот факт, что при тестировании химической чувствительности данной клетки к L-глутамату нам не удалось выявить достоверных перестроек разрядной деятельности. Средняя частота ее импульсации в период микроионофоретического подведения вещества сохранялась в тех же пределах, что и в период регистрации "фоновой" активности данной клетки (рис.50 А).

Обобщая результаты проведенных нами за последние годы экспериментальных исследований, сегодня можно определенно утверждать, что в условиях биоуправляемого микроионофореза значительная часть нейронов головного мозга демонстрирует выраженную способность к формированию клеточного аналога инструментального поведения.

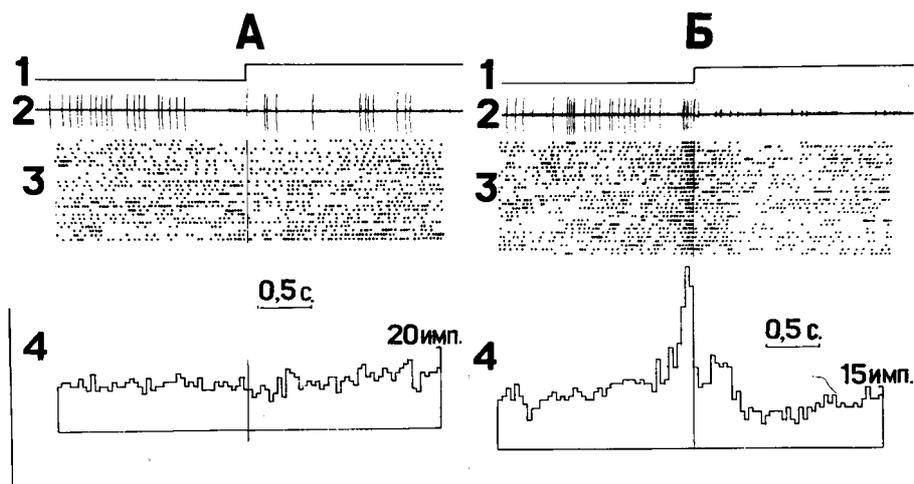


Рис.50. Разрядная активность нервной клетки в период определения её химической чувствительности к L- глутамату (А) и в условиях микроионофоретического самоподведения нейроном этого же вещества (Б). 1- отметка включения тока фореза (отклонение кривой вверх); 2- нейронограмма; 3- растры биоэлектрических разрядов нервной клетки (каждая точка соответствует определенному потенциалу действия); 4- гистограммы нейронной активности, построенные от момента начала подведения L- глутамата (ширина канала гистограммы - 40 мсек).

Продолжительность периода возникновения такого рода функциональных перестроек у разных клеток составляет от 4 до 8 минут и характеризуется широкой вариативностью динамики биоэлектрической активности.

Совершенно очевидно, что это явление очень трудно интерпретировать в рамках сложившейся к настоящему времени системы нейрофизиологических представлений. Действительно, согласно основным положениям современной нейрофизиологии зона специфического действия

нейромедиаторов ограничивается уровнем экстраклеточной среды, а их функция сводится к передаче нервного импульса путем деполяризации (или, наоборот, гиперполяризации) мембраны постсинаптической клетки. С этих позиций говорить о биологической значимости нейромедиаторных посылок, утверждать, что они могут выступать в качестве фактора положительного подкрепления в развитии процесса оперантной детерминации нейронной активности, на первый взгляд, не представляется возможным.

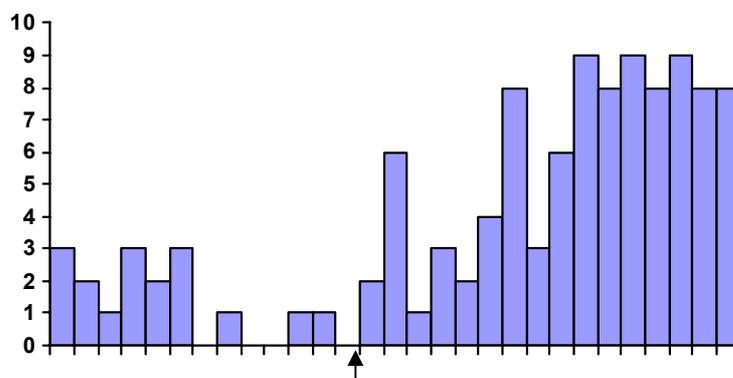


Рис.51. Изменение частоты потенциально эффективных "вспышек" нейронной импульсации в условиях микроионофоретического самоподведения клеткой L- глутамата (Б) по сравнению с "фоном" (А). По оси абсцисс - время в минутах. По оси ординат - количество соответствующих "вспышек" импульсации. Стрелкой отмечен момент начала режима биоуправляемого микроионофореза.

В связи с этим закономерно возникает вопрос: в какой мере рассмотренная выше экспериментальная ситуация моделирует реальную картину событий, развертывающихся на уровне отдельных нейронов интактной ЦНС человека и животных? Действительно ли в распоряжении нервной клетки имеются определенные молекулярно-биологические механизмы, позволяющие ей и в естественных условиях использовать отчетливо проявляющуюся в лабораторной

обстановке способность к построению инструментальных форм нейрорхимического взаимодействия?

Представленные в первых главах монографии данные, свидетельствующие о сохранении на уровне нейронов взрослого мозга механизма метаболической межклеточной кооперации, позволяет дать положительный ответ на все эти вопросы. Т.е. если процесс синаптической передачи оценивать с учетом всей совокупности связанных с ним явлений, включая универсальную роль “закона эффекта” в построении любых биологических систем - возможность построения нестимульных форм межнейронного взаимодействия не вызывает никаких сомнений.

Вполне обоснованным выглядит и заключение о существовании механизма нейрорхимического взаимодействия нервных клеток на получение общего полезного для организма приспособительного результата. Исключительно важное значение при этом приобретает установленный ранее факт взаимозависимости нейромедиаторных и внутриклеточных функций, связанных с обеспечением жизнедеятельности нервной клетки [Анохин П.,1974]. В свете этих данных медиаторные влияния, в совокупности с создаваемыми ими в центральных структурах нейрона “метаболическими откликами”, действительно, могут выступать в качестве потенциального фактора положительного или отрицательного подкрепления при формировании клеточного аналога инструментальных реакций.

Более глубокий экспериментальный анализ рассмотренных выше закономерностей (см. Приложения 4, 5) имеет, на наш взгляд, важное значение для разработки новых базовых нейрофизиологических моделей, учитывающих способность нервных клеток объединяться в устойчивые по составу группы, в которых строго согласованный характер активности отдельных элементов достигается на основе механизма положительного биохимического подкрепления индивидуальных паттернов разрядной деятельности.

Резюме

Как показывают результаты проведенных исследований, при импульсном биохимическом нейромедиаторном воздействии на нервную клетку с характеристиками (продолжительность, периодичность, концентрация вещества в растворе), определяемыми текущими параметрами ее разрядной деятельности (длительность межспайковых интервалов, средняя частота разрядов), возникает особая форма нейрхимического взаимодействия, в рамках которой нейромедиаторы начинают оказывать эффект положительного подкрепления в отношении повторяющихся однонаправленных изменений нейронной активности, резко увеличивая частоту их появления и, как следствие, вызывая общую реорганизацию паттерна разрядной деятельности нервной клетки.

Это позволяет сделать вывод о существовании двух принципиально разных схем медиаторной детерминации нейронной активности. В рамках первой из них поступающий к нейрону синаптический приток рассматривается как фактор инициации его биоэлектрических разрядов. Вторая - предполагает наличие внутренних ("пейсмекерных") механизмов генерации нервной клеткой потенциалов действия. Нейромедиаторные же функции определяются здесь как фактор селекции (выбора) определенного паттерна импульсации в рамках всего набора потенциально возможных типов построения нейронной активности.

Причем, динамика подобных функциональных проявлений на клеточном уровне, а также условия их возникновения качественным образом отличаются от аналогичных параметров хемореактивных процессов. Но особого внимания, конечно же, заслуживает высокий уровень устойчивости достигаемых таким путем перестроек нейронной активности.

Именно такая форма организации процесса нейрхимического взаимодействия позволяет объяснить те уникальные нейрофизиологические закономерности, которые

наблюдаются в экспериментах, связанных с регистрацией активности отдельных нейронов в поведении.

С позиций основных положений классической нейро-медиаторной теории такая нейрофизиологическая феноменология не поддается объяснению. Единственный на сегодняшний день путь решения этой задачи предполагает принятие представлений о том, что наряду с классическими (хемореактивными) типами нейрхимического взаимодействия возможна принципиально иная схема проявления биологически активного характера веществ медиаторной

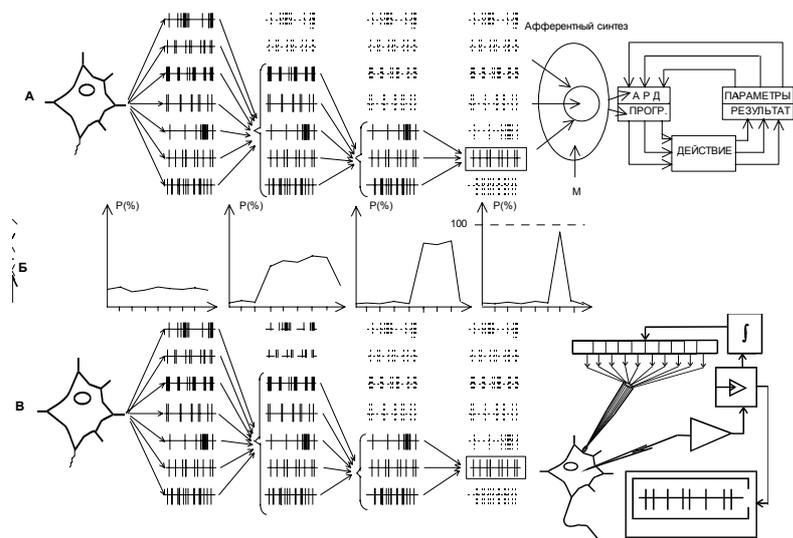


Рис.52. Схема, иллюстрирующая принцип последовательного устранения "избыточного числа степеней свободы" нервной клетки в процессе её вовлечения в состав функциональной системы (А) и в условиях биохимической оперантной детерминации определенного паттерна разрядной активности (В). По оси ординат (рис.52 Б) - вероятность возникновения данного паттерна биоэлектрических разрядов (по оси абсцисс - его условный номер).

природы, основанная на механизме оперантной детерминации.

В целом, результаты проведенных исследований позволяют получить ответ на вопрос, который был поставлен в самом начале монографии. Сегодня мы можем достаточно уверенно утверждать, что в процессе решения той или иной задачи в мозге человека и животных формируются многокомпонентные системы нервных клеток, активность которых характеризуется особой формой согласованности - формой, которую точнее всего можно определить как взаимодействие нейронов на получение общего полезного для организма приспособительного результата.

Несомненно, речь пока идет только о первых экспериментальных исследованиях, проводимых в данном направлении. На сегодняшний день можно определенно говорить лишь о потенциальной возможности всестороннего рассмотрения этого круга вопросов. Однако, самая главная проблема, которая до недавнего времени выступала в роли мощного сдерживающего фактора - проблема конкретных экспериментальных методов, открывающих возможность объективного анализа этого круга явлений - в принципиальном плане уже является разрешенной. Вопрос сейчас стоит скорее не в методологическом, а в научно-организационном плане.

В каком именно направлении пойдут в ближайшее время нейрофизиологические исследования у нас в стране и за рубежом? Как долго еще сохранится здесь приоритет старых, проверенных временем традиций изучения мозга путем "прозванивания" на препаратах ЦНС цепочек эффективно связанных между собой нейронов? Когда на смену техногенно ориентированным методологическим подходам наконец-то придут принципиально новые, в прямом смысле слова, нейробиологические методы исследования?

Ответ на все эти вопросы по-видимому даст самое ближайшее время.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нейроны мозга часто называют ещё нервными клетками. И такое определение действительно очень точно характеризует одно из самых выразительных качеств этих удивительных творений живой Природы. Любому исследователю, занимающемуся их изучением, хорошо известна способность нейронов бурно реагировать по всякому поводу генерацией коротких биоэлектрических импульсов. Свет, тепло, холод, радиационное облучение, механическая стимуляция - воздействие любого из этих факторов способно вызвать сильнейшую нейронную реакцию. А что уж говорить о влиянии различных химических стимулов! Привести нейрон в возбужденное состояние способны любые вещества, даже дистиллированная вода, если ее процентное содержание в составе экстраклеточной среды не будет соответствовать параметрам физиологической нормы.

Так что нейроны мозга можно с полным основанием называть не просто нервными, а “очень нервными” клетками. Не удивительно, что при разработке различных нейрофизиологических моделей именно свойство раздражимости и возбудимости нейронов до сих пор еще продолжает рассматриваться в качестве их базового функционального признака. Наличие этого свойства позволяет идентифицировать нервную клетку как детектор [Hubel D., Wiesel T., 1959], сумматор [Eccles J., 1964], пороговый элемент [McCulloch W., 1943], переключатель [Вулдридж Д., 1965] и т.п.

Однако сегодня становится все более очевидным, что обоснованность подобных моделей подтверждается результатами экспериментальных исследований только в том случае, если они проводятся на обездвиженных животных или на препаратах ЦНС. При переходе же к условиям свободного поведения нервные клетки начинают проявлять свойства совершенно иного рода. В частности, на смену возбудимости приходит трудно объяснимое стремление к построению особых форм коллективной деятельности - форм, основу которых составляет предсказанный в начале

1970-х годов П.К.Анохиным принцип взаимодействия клеточных элементов на получение общего полезного для организма приспособительного результата.

Более того, сравнивая функциональные свойства нейронов, которые они демонстрируют в рамках аналитических опытов и в условиях свободного поведения животных, складывается впечатление, что раздражимость (“нервность”) нейронов проистекает именно из-за невозможности в первом случае реализовать свое основное качество - стремление к постоянному взаимодействию друг с другом.

Для дальнейшего развития этих представлений принципиально важное значение приобретает рассмотрение вопроса о синаптических механизмах, лежащих в основе данного явления. Действительно, в настоящее время уже не вызывает сомнений, что нейроны мозга осуществляют взаимодействие друг с другом через особые специализированные контакты - синапсы, используя для этого вещества медиаторной природы. Сегодня мы очень хорошо знаем, как нервные клетки взаимодействуют друг с другом, используя для этого различные медиаторные механизмы. Но вот что собой представляют нейрохимические механизмы их взаимодействия?

Получить ответ на этот вопрос достаточно сложно. Действительно, все основные типы биохимических реакций, протекающих на уровне межнейронных контактов, досконально проанализированы. И детальное знание этих механизмов, казалось бы, не оставляет места каким-то иным явлениям, выходящим за рамки уже описанных закономерностей реализации процесса синаптической передачи.

Однако на самом деле это не так. Рассмотренные в предыдущих разделах монографии данные, на наш взгляд, достаточно убедительно свидетельствуют о наличии здесь значительно более сложных соотношений, нежели те, которые предусматриваются основными положениями классической нейромедиаторной теории. И дело здесь вовсе не в существовании еще каких-то малоизученных биохимиче-

ских процессов, открытие которых позволит выйти на качественно новый уровень рассмотрения механизмов межнейронного взаимодействия. Значительно более важным обстоятельством является наличие здесь особой формы организации хорошо известных из курса органической химии биохимических реакций.

Действительно, как показывают результаты проведенного анализа, описать основные закономерности межнейронного взаимодействия, рассматривая его именно как систему детерминированных химических превращений, скорее всего, вообще не возможно. Причина этого в первую очередь заключается в возникновении качественно своеобразной формы организации процесса межклеточного взаимодействия – их взаимосодействия, которое неразрывно связано с появлением особых надкомпонентных (идеальных) переменных. Без учета такого рода факторов любая, сколь угодно точная объективизация нейрохимических реакций в синапсах будет демонстрировать не более чем хаос стохастичности, свидетельствующий о влиянии каких-то неконтролируемых в опыте переменных.

Это же положение можно сформулировать и более простым образом. Можно сказать, что вброс нервными клетками в зону их взаимодействия друг с другом химических реагентов в естественных условиях реализации целенаправленного поведения происходит в настолько экзотических формах, что воспроизведение соответствующих биохимических реакций “in vitro” становится просто не возможным. С аналитической точки зрения нельзя описать даже самую логику причинно-следственных соотношений, возникающих в данном случае в рамках комплекса молекулярно-биологических процессов, развертывающихся на синаптическом уровне, т.к. управление ими осуществляется биологическими единицами, которые поставляют соответствующие реагенты в зону химической реакции, руководствуясь исключительно принципом оперантного обусловливания своей эндо-экзоцитарной активности.

Конечно, процессу биохимического межнейронного

взаимодействия при желании можно придать и строго детерминированный характер, искусственно устранив для этого влияние указанных надкомпонентных переменных. Именно это, собственно говоря, и делается при проведении аналитических опытов. Но наблюдаемые в подобных условиях закономерности, хотя и приобретут высокий уровень воспроизводимости, тем не менее, будут иметь мало общего с реальными процессами, протекающими в ЦНС интактного свободноподвижного животного.

Все вышесказанное говорит о наличии целого ряда, на первый взгляд, непреодолимых трудностей, неизбежно возникающих при попытке объективного анализа процесса межнейронного взаимодействия. И в этом есть большая доля правды.

Но справедливо это лишь отчасти. Основная цель, которая преследовалась при написании данной монографии как раз и заключалась в том, чтобы показать, что в настоящее время в этой области произошли существенные перемены. Сегодня уже можно говорить о прямом экспериментальном рассмотрении этого круга вопросов. Причем, речь идет не только о возможности проведения объективного нейрохимического анализа, но и о компьютерном моделировании подобных процессов (рис.45).

Достаточно определенной представляется и перспектива их математической формализации. Несомненный интерес в этом плане представляют результаты работ, посвященных применению принципа наименьшего действия Гамильтона-Лагранжа для описания подобных функциональных систем и создания их упрощенных, точнее говоря, максимально адаптированных к практике проведения психофизиологических исследований моделей на основе метода наименьших площадей [Боксер О., Аксюта Е., Сергеев Э., 1994].

Математическая формализация рассматриваемых процессов имеет принципиально важное значение и по другой причине. Становится достаточно очевидным, что в данном случае речь идет о значительно более общей психофи-

зиологической закономерности, которая охватывает не только сферу индивидуальной поведенческой активности. Не менее актуальные вопросы возникают и при рассмотрении с этих позиций различных форм группового поведения людей.

Уже самые первые полученные на этом пути результаты (рис.45) показывают, какие большие возможности открываются в рамках моделирования такого рода процессов, особенно в связи с развитием новых сетевых технологий на основе современных телекоммуникационных систем.

Сегодня мы совершенно справедливо поражаемся проницательности тех ученых, которые почти сто лет назад, когда не было ни компьютеров, ни телевизоров, ни даже нормальных радиоприемников, смогли безошибочно предсказать скорое появление вокруг нашей планеты особой, искусственно созданной человеком оболочки - ноосферы, которая на наших глазах становится инструментом невиданной интеллектуальной интеграции людей, живущих на разных континентах, говорящих на разных языках и исповедующих разные религии.

Но, отдавая должное тем, кто сумел точно определить масштабы и общую направленность надвигающихся технологических изменений, нельзя не обратить внимания и на другой важный аспект сделанного ими прогноза. А именно, на неизбежность качественного преобразования ноосферных процессов, неуклонной их трансформации в конвергентные формы [Федоров Н.Ф., 1982; Вернадский В.И., 2002; Пьер Тейяр де Шарден, 1987]. И в этом нет никакой фантастики.

Если вновь обратиться к рассмотренной в разделе III (глава 2) модели группового взаимосвязанного поведения, нетрудно заметить, что речь там идет о самой простейшей из множества возможных форм построения согласованной коллективной деятельности. И, тем не менее, даже такие элементарные технические решения уже выводят на уровень воспроизводимости феномена надкомпонентной идеальной (психической) реальности. Нетрудно себе предста-

вить, какие результаты могут быть получены в области моделирования явления “коллективного разума”, если, скажем, вместо аналоговых джойстиков использовать трехмерные джойстрингеры, а взамен примитивных задач на логическое обобщение сделать основной акцент на модели группового поведения профессиональных исполнителей симфонического оркестра.

Но и это не самое важное. Складывается впечатление, что наиболее значимые результаты в ближайшее время следует ожидать в рамках попыток воспроизведения элементов индивидуальной сознательной деятельности конкретной личности на основе конвергентного принципа построения виртуальной реальности. Другими словами, речь идет о проблеме локального моделирования феномена “точки Омега” [Тейяр де Шарден, 1984] при помощи современных сетевых компьютерных методов.

Какие именно технические решения окажутся здесь наиболее приемлемыми, с учетом каких морально-этических принципов будет решаться проблема выбора биологического субстрата, выступающего в качестве центра психофизиологической конвергенции, - пока не ясно. Но то, что основной акцент экспериментального анализа в области психофизиологии в ближайшее время будет неуклонно смещаться в сторону проведения именно этих исследований, для нас уже не вызывает сомнений.

**MOLECULAR - BIOLOGICAL AND PHYSIOLOGICAL BASIS
OF THE NEUROSINERGISM**

L.V.Bobrovnikov

Dr. sci. (technics), cand. sci. (biology), academician of Russian Academy of Natural Science, head res. ass., Institute of scientific researches of normal physiology named after P.K.Anokhin, RAMS

Within the framework of the general theory of functional systems there are considered the empirical data on analysis of molecular-biological and physiological mechanisms of the neurosinergism.

Литература

Айрапетян С.Н., Карпентер Д.О. О модуляционном действии сверхмалых доз медиаторов на функциональную активность нейрональной мембраны - Журнал эвол. биохимии и физиологии. 1991. Т.27. № 2. С.146-151.

Александров В.Я. Проблема поведения на клеточном уровне.- Успехи совр. биол. 1970. Т.69. № 2. С.220-240.

Александров Ю.И. Постоянство состава активирующихся нейронов при изменениях параметров целенаправленного движения. - Журн. высш. нервн. деят. 1982. Т.32. №2. С.333-336.

Александров Ю.И. Психофизиологическое значение активности центральных и периферических нейронов в поведении. М.: Наука. 1989. 205 с.

Александров Ю.И., Александров И.О. Активность нейронов зрительной и моторной областей коры мозга при осуществлении поведенческого акта с открытыми и закрытыми глазами - Журн. высш. нервн. деят.,1981.Т.31.№ 6. С.1179-1189.

Александров Ю.И., Гринченко Ю.В. Изменение рецептивных полей центральных нейронов в поведении: иерархический анализ - Нейроны в поведении. Ред.В.Б.Швырков. 1986. М.: Наука. С.107-119.

Александров Ю.И., Корпусова А.В. Роль цели в детерминации активности нейронов моторной и зрительной областей коры кролика - Журн. высш. нервн. деят., 1987. Т.37. №1. С.70-77.

Александров Ю.И., Гринченко Ю.В., Мац В.Н., Лаука С., Корпусова А.В. Участие нейронов моторной коры кролика в обеспечении инструментального поведения до и после хронической алкоголизации: сравнение с лимбической корой - Журнал высш. нервн. деят. 2002. т.52. №1. С.85-96.

Андреанов В.В. Нейрохимические клеточные механизмы оценки результатов поведенческой деятельности. - Журн. высш. нервн. деят. 1993. Т.43. №2. С.326-332.

Андрианов В.В. Мотивация и подкрепление как факторы, определяющие химическую чувствительность корковых нейронов в целенаправленном поведении. - В Сб.: Интегративная деятельность мозга. Тр. Межвед. научн. совета по эксп. и прикладной физиологии. М. 2000. С.26-38.

Анохин П.К. Проблема центра и периферии в современной физиологии нервной деятельности - Проблема центра и периферии в физиологии нервной деятельности. Горьковское изд-во. 1935. С.9.

Анохин П.К. Системогенез как общая закономерность эволюционного процесса.- Бюл. эксперим. биологии и медицины. 1948. Т.26. №8. С.81-99.

Анохин П.К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса. М.: Медицина 1968.499 с.

Анохин П.К. Теория функциональной системы. - Успехи физиол. наук. 1970. Т.1. №1. С.19-54.

Анохин П.К. Принципиальные вопросы общей теории функциональных систем. М.: Наука. 1971.

Анохин П.К. Системный анализ интегративной деятельности нейрона - Успехи физиологических наук. 1974. Т.5. № 2. с.5 - 92.

Анохин П.К. Очерки по физиологии функциональных систем. М.: Медицина. 1975.

Анохин П.К. Философские аспекты теории функциональной системы. М.: Наука. 1978. 399 с.

Бадиков В.И. Механизмы динамического взаимодействия положительных и отрицательных эмоций в поведенческих актах. - Автореф. дисс. ... докт мед. наук. М.: 1986.

Ашмарин И.П. Нейромедиаторы и нейромодуляторы, эволюция соединений и эволюция гипотез. – Журн. эволюц. Биохимии и физиологии. 1979. №3 С.278-282.

Безденежных Б.Н. Активность корковых нейронов в пищедобывательном поведении при микроионофоретическом подведении к ним ацетилхолина и L-глутаматат.- Журн. высш. нервн. деят. 1983. Т.23. N 3. С.500-507.

Безуглый А.П. Взаимодействие норадреналина и пентагастрина в нейрохимических механизмах пищевой моти-

вазии. - Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.: 1993

Белый В.П., Шерстнев В.В. Изготовление многоканальных стеклянных микроэлектродов.- Журн. высш. нервн. деят. 1973. Т.23. №6. С.1321-1322.

Бернс Б. Неопределенность в нервной системе. М.: Мир. 1969. 251с.

Бернштейн Н.А. Проблема взаимоотношений координации и локализации - Архив биол. наук. Т.38. №1. 1935. С.1.

Бернштейн Н.А. О построении движений. Медгиз. 1947. 255 с.

Бернштейн Н.А. Физиология движений и активность. М.: Наука. 1990. 491 с.

Бобровников Л.В. Динамика формирования двух типов инструментального поведения у кроликов - Журн. высш. нервн. деят. 1982. Т.32. N.1 С.25-31.

Бобровников Л.В. Импульсная активность корковых нейронов в двух разнородных типах инструментального поведения кроликов - Журн. высш. нервн. деят. 1982. Т.32. N.2 С.340 - 343.

Бобровников Л.В. Об особенностях реализации оборонительных и пищедобывательных инструментальных реакций в условиях конкурентных соотношений. - Журнал высш. нервн. деят. 1982. Т.32. N6. С.1077-1083.

Бобровников Л.В. Устройство для дискретного анализа импульсной активности нейронов в условиях свободного поведения животных.- Журнал высш. нервн. деят., 1983. Т.33. N 6. С.1167-1169.

Бобровников Л.В. Способ исследования нейрональной активности при электрическом воздействии на мотивационные центры и устройство для его осуществления. - Проспект ВДНХ СССР. Москва. 1983. С.1-3.

Бобровников Л.В. Мультипараметрический анализ целенаправленного поведения животных в процессе устранения стрессовой ситуации.- Мат. Международной Павловской конференции "Эмоции и стресс" Москва. 1984. С.47-49.

Бобровников Л.В. Электрофизиологический анализ ак-

тивности сенсомоторных нейронов в условиях смены пищедобывательного инструментального поведения на оборонительное.- Автореф. канд. биол. наук. Москва. 1984.

Бобровников Л.В. Исследование корковых нейронов методом микроионофореза, управляемого нейронной активностью.- Журн. высш. нервн. деят. 1986. Т.36. N 5. С.975-977.

Бобровников Л.В. Разрядная активность нейрона как фактор реорганизации его нейромедиаторного притока - Мат. Международной конференции "Системные механизмы подкрепления". Москва. 1986 С.7-9.

Бобровников Л.В. Нейрофизиологические аспекты взаимодействия функциональных систем пищедобывательного и оборонительного поведения.- В сб.: Нейроны в поведении. Системные аспекты. (Ред. В.Б.Швырков). М.: Наука. 1986. С.180-194.

Бобровников Л.В. Исследование закономерностей нейрональной интеграции функциональной системы поведенческого акта - Материалы Международного симпозиума "Интегративная деятельность нейрона: молекулярные основы" - Москва. 1988. С.14-15.

Бобровников Л.В. Формирование поведенческого акта: проблема внутрисистемной гетерохронии.- Журн. высш. нервн. деят. 1988. Т.38. N 1. С.30-39.

Бобровников Л.В. Вероятностно-статистические критерии оценки поведенческой специализации нервных клеток.- Психологический журнал. 1989. Т.10. N 2. С.90-98.

Бобровников Л.В. Устройство для исследования обменных процессов нервной клетки в период генерации потенциала действия - Журн. высш. нервн. деят. 1991.Т.41 N 3. С.595-597.

Бобровников Л.В. Особенности поведенческой специализации стабильно- и нестабильно-активных нервных клеток.- Журн. высш. нервн. деят. 1996. Т.46. N 4. С.745-753.

Бобровников Л.В. Репарационная активность и нейро-

генез.- Журн. высш. нервн. деят., 1996, Т.46, N 5, С.961-964.

Бобровников Л.В. "Подпороговые" нейромедиаторные процессы и их роль в реализации механизмов интегративной деятельности нейрона. - Вестник новых мед. технологий. 1998. Т.5. N 1. С.42-45.

Бобровников Л.В. Особенности аминокислотного обмена нервной клетки в период генерации потенциала действия.- Вестник новых мед. технологий, 1998. Т.5. N 1. С.60-62.

Бобровников Л.В. Инструментальные формы нейрохимического взаимодействия. Шуя. Изд-во "Весть". 2000. 60 с.

Бобровников Л.В. Явление положительного биохимического подкрепления в функционировании сложных нейронных систем.- Вестник РАЕН. 2003. №2. С.48-52.

Бобровников Л.В. Механизмы мотивационной детерминации нейронной активности в поведении.- Психологический журнал РАН. 2003. Т.24. №4 С. 98-111.

Бобровников Л.В. Способ определения проницаемости мембраны нейрона - Бюл. изобретений и открытий. 1993. № 3. Патент на изобретение N 1790768 G 01 N 33/48 1992 г. (Дата приор. 16.09.89 г.).

Бобровников Л.В. Устройство для локального подведения биологически активных веществ - Бюл. изобретений и открытий. 1998. № 2. Патент на изобретение №2102750 G 01 N 33/48 1998 г. (Дата приор.16.06.95 г.).

Бобровников Л.В. Микрозонд для функционального биохимического анализа - Бюл. изобретений и открытий. 1999. № 9. Патент на изобретение №2127880 1999 г. 6 G 01 N 33/48; А 61 В 10/00 (Дата приор. 26.03.97 г.)

Бобровников Л.В. Устройство для групповой взаимосвязанной хронореакциометрии. - Патент на изобретение (заявка №2004108106/14(008884)). Приоритет: 22.03.2004 г.

Бобровников Л.В. Явление биохимической оперантной детерминации активности нейронов головного мозга чело-

века и животных (Диплом на научное открытие №195). Приоритет: 28 октября 1985 г.

Бобровников Л.В., Чан Куанг Тин. Динамика ритма сердечных сокращений во время реализации пищедобывательных и оборонительных инструментальных действий.- Мат. Междунар. конф. Развитие общей теории функциональных систем. Москва. 1986. С.9.

Божкова В.П. и др., Изменение проводимости межклеточных контактов в процессе дифференцировки клеток слюнной железы личинок *Drosophila virilis* на 3-й стадии развития.- Цитология. 1970. т.12. С.1108-1115.

Боксер О.Я. Системный количественный анализ экстренных двигательных реакций человека в различных условиях.- Автореф. дисс. докт. мед. наук. М. 1981.

Боксер О.Я. Тренажер акцептора действия.- Мат. ВДНХ СССР. 1983.

Боксер О.Я. Системокванты физиологических и психологических процессов: в чем их принципиальное отличие от "физических" квантов? - В сб.: Актуальные вопросы психофизиологии и психологии. Шуя. 1998. С.13-16.

Боксер О.Я. Психофизиологические исследования функциональных биотехнических систем с биологической обратной связью. - Успехи физиол. наук. 1994.

Боксер О.Я. Биотехническая система усиления и тренировки акцептора результата действия. В кн.: Моделирование функциональных систем. М. 2000. С.169 - 198.

Боксер О.Я., Аксюта Е.Ф. Устройство для исследования взаимосвязанной последовательной реакции группы лиц. - Бюл. изобр. 1972. № 23. Авт. свидетельство на изобретение №345918.

Боксер О.Я., Аксюта Е.Ф., Сергеев Э.В. Функциональные биотехнические системы обучения, тренировки и реабилитации: теоретические и прикладные вопросы. Шуя. 1994. 118 с.

Борисова Е.В. Электрофизиологический и нейрохимический анализ нейронов ретикулярной формации и орби-

тальной коры при пищевом мотивационном возбуждении. - Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.: 1983.

Бородкин Ю.С. Основы долговременной памяти. Л.: Медицина. 1982.

БСЭ Т.23 Большая Советская энциклопедия.

Васильев Ю.М. и др. Взаимодействие в биологических системах.- Природа. 1969. №6,7.

Вентцель Е.С. Теория вероятностей. М.: Наука, 1969. 476 с.

Вернадский В.И. Биосфера и ноосфера. 2002. М.: Айрис-Пресс. 573 с.

Вулдридж Д. Механизмы мозга. М.: Мир. 1965. 344с.

Вундт В. Очерки психологии. Московское книгоиздательство. 1912. 300 с.

Гольберг М.Е., Робинсон Д.Л. Изменения зрительной реакции нейронов верхних бугорков и коры больших полушарий головного мозга обезьян. В кн.: Нейрофизиологические механизмы поведения. М.: Наука. 1982. С.406-414.

Горкин А.Г., Шевченко Д.Г. Стабильность поведенческой специализации нейронов. - Журн. высш. нервн. деят. 1990. Т.40. N 2. С.291-300.

Греченко Т.Н. Соматические механизмы регуляции синаптической эффективности - Системный подход к психофизиологической проблеме.- М.: Наука. - 1982.- Ред.В.Б.Швырков. С.222-227.

Гринченко Ю.В., Швырков В.Б. Простой микроманипулятор для исследования нейронной активности у кроликов в свободном поведении - Журн. высш. нервн. деят. 1974. Т.24. № 4. С.870.

Гусельников В.И., Супин А.Я. Ритмическая активность головного мозга. Изд-во МГУ. М. 1968. С.3-253.

Дарвин Ч. Происхождение видов. ОГИЗ - Сельхозгиз. Москва-Ленинград. 1935. 630 с.

Джон Е. Статистическая теория обучения и память . В кн. Механизмы формирования и торможения условных рефлексов. М. Наука 1973. С.183-213.

Драбкина Т.М., Матюшкин Д.П., Романовский Д.Ю. О

модулирующем действии некоторых факторов мышечного происхождения на функцию моторного нервного окончания - Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. 1999. № 1. С.149-158.

Дубинин Н.П. Диалектика скачков в истории жизни. В кн.: Диалектика в науках о природе и человеке. М.: Наука. 1983. Т.2. С.100.

Журавлев Б.В. Нейрофизиологические механизмы опережающих возбуждений в системной организации поведенческих актов. - Автореф. дисс... докт. мед. наук. М.: 1986.

Журавлев Б.В. Системный анализ активности нейронов мозга при пищедобывательном поведении животных. - В Сб.: Нейроны в поведении. Системные аспекты. М.: Наука. 1986. С.170-179.

Карпов А.П. Активность нейронов обонятельной луковицы кролика в пищедобывательном поведении. В кн.: Системные аспекты нейрофизиологии поведения. М.: Наука. 1979. С.111-145.

Коган А.Б., Наумов Н.П., Режабек Б.Г., Чораян О.Г. Биологическая кибернетика. М.: Высшая школа. 1977. 408с.

Котляр Б.И., Мясников А.А., Медведовский Б.В. Динамика реактивности корковых нейронов к повторяющейся электрофоретической аппликации ацетилхолина.- Журн. высш. нервн. деят. 1986. Т.36. №4. С.736-743.

Котляр Б.И., Овчаренко Ю.С. Интегративные свойства микропопуляции корковых нейронов - Журнал высш. нервн. деят. 1980. Т.30. №1. С.174.

Котов А.В. Пластичность доминирующей мотивации. - Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М.: 1986.

Коштыянец Х.С. Энзимохимическая гипотеза возбуждения - Физиологич. журн. СССР. 1950. N.1 С.92-96.

Кругликов Р.И. Основные направления исследования нейрохимических механизмов обучения и памяти.- Журн. высш. нервн. деят., 1986. Т.36. №2. С.226-231.

Куффлер С., Николс Дж. От нейрона к мозгу. М.: Мир 1979. С.271

Кэндел Э. Р. Клеточные основы поведения. М.: Мир. 1980. 599 с.

Леонтьев А.Н. Деятельность, сознание, личность. М.: Наука. 1975.

Леонтьев А.Н. Проблемы развития психики. М.: МГУ. 1981. 584 с.

Максимова Е.В. Функциональное созревание неокортекса в пренатальном онтогенезе. М.: Наука, 1979. 144 с.

Матюшкин Д.П. О функциональных обратных связях в синапсе (факты и гипотезы). Л.: ЛГУ 1975 (это полный повтор УФН 1977)

Матюшкин Д.П. Реакции нервных элементов на накопление К в среде и функциональная калийная обратная связь в синапсе.- Физиол.журн.СССР 1976.Т.62 №12.С.1834-1841

Матюшкин Д.П. Обратные связи в синапсе. Л.: Наука. 1989.

Матюшкин Д.П. О влиянии постсинаптических факторов на пресинаптические нервные окончания - УФН 1977 Т.8. №3 С.28-47.

Матюшкин Д.П. и др. Антидромное действие K^+ в синапсах, усиливающее их ортодромное действие - Физиологический журнал им. И.М.Сеченова. 1995. № 8.

Мещеряков А.Ф. Анализ участия нейронов перифорникальной области гипоталамуса в механизмах алкогольной мотивации у крыс.- Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. М.: 1981.

Муртазина Е.П. Системный анализ нейрофизиологических механизмов участия нейротропина в процессах обучения животных оборонительному навыку.- Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.: 1993.

Никитин В.П., Козырев С.А., Самойлов М.О. Обусловливание и сенситизация у виноградной улитки: нейрофизиологические и метаболические особенности. - Журн. высш. нервн. деят. 1992. Т.42. №6. С.1260-1270.

Никитин В.П., Шерстнев В.В. Простагландины и функциональная специфичность центральных нейронов вино-

градной улитки. - *Нейрофизиология*. 1981. №6. С.580-585.

Орбачевская И.Ю. Участие гастрина в центральных механизмах пищевого поведения.- Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.: 1982.

Пивоваров А.С. Активаторы G-белков повышают пластичность холинорецепторов нейронов виноградной улитки- *Журн.высш.нервн.деят.* 1994. N.6. С.1070-1076.

Пивоваров А.С., Котляр Б.И. Регуляция кальцием кратковременной пластичности холинорецепторов нейронов ППаЗ и ЛПаЗ виноградной улитки - *Журн. высш. нервн. деят.* 1990. N.1. С.135.

Пивоваров А.С., Дроздова Е.И. Генерализованные и локальные изменения холиночувствительности нейронов виноградной улитки после однократного или тетанического локального подведения к ним ацетилхолинхлорида - *Журн. высш. нервн. деят.*, 1997. Т.47. №4. С.715 - 725.

Прибрам К. Языки мозга. - М.: Прогресс.. 1975.

Сахаров Д.А. Предисловие к монографии Г.М.Шеперда *Нейробиология*. М.: Мир. 1987. Т.1. 454 с.

Сахаров Д.А. Множественность нейротрансмиттеров: функциональное значение.- *Журн. эволюц. биох. и физиол.* 1990. Т.26. №5. С.733-740.

Скребицкий В.Г. Пластические свойства нейронов зрительной коры бодрствующего кролика - *Нейронные механизмы ориентировочного рефлекса*. М.: МГУ. 1970. С.155-163.

Снедекор Д.У. Статистические методы в применении к исследованиям в сельском хозяйстве и биологии. М.: Мир. 1961. 318 с.

Соколов Е.Н. Привыкание гигантского нейрона моллюска к электрическим внутриклеточным раздражениям - *Нейронные механизмы обучения*. М.: МГУ. 1970. С.92.

Соколов Е.Н. Пейсмекерный потенциал нейрона. - Тбилиси. 1975. 213 с.

Судаков К.В. Рефлекс и функциональная система. Новгород. 1997. 397 с.

Сулин В.Ю. Нейрофизиологические механизмы про-

цесса обучения животных оборонительному поведению в условиях действия фрагмента 125-129 А-2 интерферона RITLY.- Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.: 1993.

Тейяр де Шарден П. Феномен человека. М.: Наука. 1987. 240 с.

Тимошин Д.В. Динамика импульсной активности нейронов коры при формировании и воспроизведении пищедобывательного навыка у кролика в условиях модуляции нейроиммунных процессов нейротропином.- Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. М.: 1991.

Тинберген Н. Поведение животных. М.: Мир. 1969. 191с.

Ухтомский А.А. Избранные труды. Л.: Наука. 1978. 358с.

Уолтер Г. Живой мозг. М.: Мир. 1976. С.15.

Фадеев Ю.А. Нейроны коры большого мозга в системной организации поведения. М.: Медицина. 1988. 174 с.

Фадеев Ю.А., Бобровников Л.В., Волков В.Ф., Швыркова Н.А. Изучение деятельности отдельных нейронов коры мозга в свободном поведении животных на основе теории функциональных систем.- Вестник Академии медицинских наук СССР. 1982. N 2. С.42-47.

Федоров Н.Ф. Сочинения. М.: Изд-во "Мысль". 1982. 711 с.

Хайнд Р. Поведение животных. М.: Мир. 1975. 853с.

Хаютин С.Н. Характеристика активности одиночных нейронов зрительной коры в условиях выраженной пищевой мотивации- Журн. высш. нервн. деят. 1972. Т.22. N 6. С.1248-1259.

Шамаев Н.Н. Импульсная активность нейронов орбитальной коры и латерального гипоталамуса при пищевом поведении кролика.- Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. М.: 1982.

Швырков В.Б. Целевая специализация центральных нейронов в процессе обучения. В сб.: Интегративная деятельность нейрона. Мат. V Всесоюзн. семинара по развитию общей теории функциональных систем. М. 1979. С.146.

Швырков В.Б. Психофизиологическое изучение структуры субъективного отражения.- Психологич. журн. 1985. Т.6. № 3. С.29.

Швырков В.Б. Введение в объективную психологию. Нейрональные основы психики. М.: Ин-т Психологии. 1995.

Швыркова Н.А. Активность нейронов зрительной области коры при изменении пространственной организации Среды. - В кн.: Мозг и психическая деятельность. М.: 1984. С.175-185.

Швыркова Н.А., Бобровников Л.В. Активность нейронов центральных структур в функциональной системе пищедобывательного поведения при изменении обстановки. В сб.: Интегративная деятельность нейрона. Мат. V Всесоюз. семинара по развитию общей теории функциональных систем. М. 1979. С.113-115.

Швыркова Н.А., Филипович Д., Лажетич Б. Опережающее отражение изменяющейся Среды в активности центральных нейронов- Вестник АМН СССР. 1985. №2. С.16

Шеннон К. Работы по теории информации и кибернетике. ИЛ. М. 1963.

Шерстнев В.В. Мозгоспецифические белки в системной деятельности нейрона. – Вестник АМН СССР, 1982, №2. С.47-52.

Шмальгаузен И.И. Организм как целое в индивидуальном и историческом развитии. Избранные труды. М.: Наука. 1982. 383 с.

Balear V., Johnston G. Glutamate uptake by brain slices and its relation to the depolarization of neurones by acidic amino acids. - J.Neurobiol. 1972. v.3. P.295-303.

Basmajian J.V., Stecko G. A new bipolar electrode for electromyography.- J. Appl.Physiol. 1962. v.17. P.849-851.

Belluzzi J.D., Kossuth S.R., Lam D., Derakhshanfar F., Shin A., Stein L. Cocaine self-administration patterns: duplication by combination of dopamine D1 and D2 agonists.- Society for Neuroscience Abstracts. 1993. N.19. P.1862.

Bennett M.V., Spray D.C., Harris A.L. Gap junctions and development.- Trends Neurosci.1981. v.4. P.159-163.

Bevans C.G., Kordel M., Rhee S.K., Harris A.L. Isoform composition of connexin channels determines selectivity among second messengers and uncharged molecules. - J. Biol. Chem. 1998. v. 273. P.2808-2816.

Bobrovnikov L.V. Formation of the behavioral act: problem of intrasystemic heterochronia.- Neurosci. Behav. Physiol. 1988. V.18. N.6. P. 453-461.

Bobrovnikov L.V. Microiontophoretic application of L-glutamate as a factor of operant conditioning of neuron firing pattern.- Systems Research in Physiology. 1991. v.4. P.219-228. Gordon and Breach Science Publishers. New York.

Bobrovnikov L.V. Device for the investigation of metabolic processes of the nerve cell in the period of the generation of the action potential.- Neurosci. Behav. Physiol. 1992. V.22, N 4, P.284-286.

Bone L.J. et al. Connexin 32 and X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. - Neurobiol. Dis. 1997. v.4. P.221-230

Birks R.I., MacLintosh F.C. Acetylcholine metabolism at nerve endings.- Brit. Med. Bull. 1957. N.1. P.157-161.

Brink P.R., Dewey M.M. Nexal membrane permeability to anions. - J.Gen. Physiol., 1978, v.72. p.67-86.

Bruzzone R., White T., Paul D. Connections with connexins: the molecular basis of direct intercellular signaling. Eur. J. Biochem. 1996. v.238. P.1-27.

Byrne J.H. Cellular analysis of associative learning. - Physiol. Reviews. 1987. v.67. N2. P.329-439.

Burns B.D. The uncertain nervous system. 1968. London. Ed.: E.Arnold. 263 p.

Cao F. et al. A quantitative analysis of connexin-specific permeability differences of gap junctions expressed in HeLa transfectants and *Xenopus* oocytes. - J. Cell Sci. 1998. v.111. P.31-34.

Caspar D.L. et al. Gap-junction structures. Correlated electron microscopy and X-ray diffraction.- J.Cell Biol., 1977. 74. P.605-628.

Chen C.E. et al., Pacemaker properties of completely isolated neurones in *Aplysia californica*. - Nature New Biology.

1971. v.233. P.27-29.

Connors B.W., Benardo L.S., Prince D.A. Coupling between neurons of the developing rat neocortex.- J.Neurosci. ,1983, v.3, p.773-782.

De Long M., Strick P. Relation of basal ganglia, cerebellum and motor cortex units to ramp and ballistic limb movements. - Brain Res. 1974. v.71. P.327-335.

Dennett C.D. Darwin,s dangerous idea. - N.Y.: Simon & Schucter. 1995. 672 p.

Donahoe J.W. Edward L.Torndike: The Selectionist Connectionist.- J. Exp. Analysis of Behavior. 1999. V.72. N3. P.451-454.

Eckert R., Naitoh Y. Bioelectrics of paramecium.- J.Gen.Physiol.1970. v.55. P.467.

Elfgang C. et al. Specific permeability and selective formation of gap junction channels in connexin-transfected HeLa cells. - J. Cell Biol. 1995. v.129. P.805-817.

Erecinska M. The neurotransmitter amino acid transport systems.- Biochem. Pharmacol. 1987. v.36. N.21. - P.3547-3555.

Fatt P., Katz B. Spontaneous subthreshold activity at motor nerve endings.- J.Physiol.- 1952.- N.1. P.109.

Fetz E.E. Biofeedback and differential conditioning of respons patterns in the skeletal motor system.- Biofeedback and behavior. 1977. P.413-425.

Fetz E.E., Baker M.A. Operantly conditioned patterns of precentral unit activity and correlated responses in adjacent cells and contralateral muscles.- J. of Neurophysiol. 1973. V.36. N2. P.179-204.

Fetz E.E., Finicchio D.V. Operant conditioning of specific patterns of neural and muscular activity. In.: Brain unit activity during behavior. Springfield. Illinois. USA. 1973. P.301.

Findlay A.L., Hayward J.N. Spontaneous activity of single neurons in the hypothalamus of rabbits during sleep and waking // J.Physiol (London). 1969. v.201. P.237-258.

Flagg-Newton J., Simpson I., Loewenstein W.R. Permeability of the cell-to-cell membrane channels in mammalian cell

junction.- Science, 1979, v.205, p.404-407.

Franke C., Hatt H., Dudel J. Liquid filaments switch for ultrafast exchanges of solutions at excised patches of synaptic membrane of crayfish muscle.- Neuroscience Letters. 1987. V.77. P.199-204.

Fulton B.P., Miledi R., Takahashi T. Electrical synapses between motoneurons in the spinal cord of the newborn rat.- Proc. Roy. Soc. London B, 1980, v.208, p.115-120.

Furshpan E.J., Potter D. D. Transmission at the giant motor synapses of the crayfish.- J.Physiol.. 1959. v.145. P.289-325.

Golgi C. Le reseau nerveux diffus des centres du systeme nerveux. Ses attributs physiologiques. Methode suivie dans les recherches histologiques.- Arch. Ital. Biol. 1891. v.15. P.434-463.

Goodenough D.A., Goliger J.A., Paul D.L. Connexins, connexons and intercellular communication. - Annu. Rev. Biochem. 1996. v. 65. P.475-502.

Goodman C.S, Spitzer N.C. Embryonic development of identified neurons: differentiation from neuroblast to neuron.- Nature. 1979. v.280. P.208-213.

Hawkins R.D., Kandel E.R., Siegelbaum S.A. Learning to modulate transmitter release: themes and variations in synaptic plasticity. - Annu. Rev. Neurosci. 1993. v.16. P.625-665.

Heit G., Smith M., Halgren E. Neural encoding of individual words and faces by the human hippocampus and amygdala. - Nature. 1988. v.333. P.773-775.

Hertzberg E.L., Gilula N.B. Isolation and characterization of gap junctions from rat liver.- J.Biol. Chem. 1979. v. 254. P.2138-2147.

Heuser J.E. et al. Synaptic vesicle exocytosis captured by quick freezing and correlated with quantal transmitter release.- J. Cell Biol.1979.- N.2. - P.275-300.

Hopfer V., Groseclose R. The mechanism of Na- dependent D-glucose transport. - J. Biol. Chem. 1980. v.255. P.4453-4462.

Hyden H. Membrane activity of a brain specific protein. -

Comp. Biochem Physiol. 1980. N3. P. 412-422.

Hubel D.H., Wiesel T.N. Receptive fields of single neurons in the cats striate cortex.- J. Physiol. 1959. v.148. P.574.

Ikemoto Y., Akaike N. Concentration clamp analysis of the GABA-induced chloride current in isolated aplysia neurons.- Symposia Biologica Hungarica. 1987. P.617-630.

Ikemoto Y., Akaike N., Ono K. Kinetic analysis of glutamate-induced chloride current in Aplysia neurones: a concentration clamp study. - J. Pharmacol. 1988. V.150. N 3. P.303-311.

Irvine D.F., Huebner H. Acoustic response characteristics of neurons in nonspecific areas of cat cerebral cortex. - J. Neurophysiol., 1979. v.42. p.107.

Ito S., Sato E., Loewenstein W.R. Studies on the formation of a permeable cell membrane junction. I. Coupling under various conditions of membrane contact, effect of colchicine, cytochalasine B, dinitrophenol.- J.Membr. Biol. 1974. v.19. P.305-337.

Jacobson M., Hunt R.K. Origins of nerve cell specificity.- Sci. Amer.1973. v.228 P.26-35.

Jiang J.X., Goodenough D.A. Heteromeric connexons in lens gap junction channels. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1996. v.93. P.1287-1291.

Johnson R., Hammer M., Sheridan J., Revel J.P. Gap junction formation between reaggregated Novikoff hepatoma cells.- Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1974 71, P.4536-4540.

Kanno Y., Loewenstein W. Low-resistance coupling between gland cells. Some observation on intercellular contact membranes and intercellular space.- Nature, 1964, 201, p.194-195.

Kanno Y., Loewenstein W. Cell-to-cell passage of large molecules.- Nature. 1966. 212. P.629-630.

Katz B. The transmission of impulses from nerve to muscle and the subcellular unit of synaptic action/ - Proc. Roy. Soc. 1962.V.155. P.455.

Keller K. et al. D-glucose transport in culture cells of neural origin: the membrane as possible control point of glu-

ucose utilization. - J.Neurochem. 1981. v.36. P.1012-1017.

Kendrick K.M., Levy F., Keverne E.B. Change in the sensory processing of olfactory signals induced by birth in sheep. - Science. 1992. v.256. P.833-836.

Konig N., Zampighi G.A. Purification of bovine lens cell-to-cell channels composed of connexin 44 and connexin 50. - J. Cell Sci. 1995. v.108. P.3091-3098.

Kuroda Y., McIlwain H. Uptake and release of [14C]- adenine derivatives at beds of mammalian cortical synaptosomes in a superfusion system. - J. Neurochem. 1974. v.22. P.691-700.

Loewenstein W.R. Functional intercellular communication: The cell-to-cell membrane channel.- Physiol. Revs. 1981. v.61. P.829-913.

Lopresti V. , Macagno.E.R., Levinthal C. Structure and development of neuronal connections in isogenic organisms transient gap junctions between growing optic axons and lamina neuroblasts.- Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1974 v.71. P.1099-1102.

Makowski L. et al. Gap junction structures. V. Structural chemistry inferred from X-ray diffraction measurements on sucrose accessibility and trypsin susceptibility. - J. Mol. Biol. 1984. v. 174. P.449-481.

Massoulie J., Bon S. The molecular forms of cholinesterase and acetylcholinesterase in vertebrates.- Annu.Rev.Neurosci. 1982. N.1. P.57

Mata M. et al. Activity-dependent energy metabolism in rat posterior pituitary primarily reflects sodium pump activity. - J.Neurochem. 1980. v.34. P.213-215.

McCulloch W.S., Pitts W.A. A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. - Bull. Math. Biophysics. 1943. v.5. P.115.

Miller G.A., Galanter E., Pribram K.H. Plans and the structure of behavior. Ed. Henry Holt and Company. New York. 1960.

Møllgard K., Møller M. Dendrodendritic gap junctions (a developmental approach).- Adv. Neurol. 1975. v.12. P.79-89.

Monnier M., Gangloff H. Rabbit brain research atlas for

stereotaxic brain research on the rabbit. In.: Rabbit brain research. Amsterdam: Elsevier. 1961. V.1. P.76.

Moore B.R. The role of directed Pavlovian reactions in simple instrumental learning in the pigeon. In.: Constraints on learning, Hinde R.A. Stevenson-Hinde J. (eds.) London, Academic Press. 1973.

Moreno A.P., Rook M.B., Fishman G.I., Sprav D.C. Gap junction channels: distinct, voltage-sensitive and -insensitive conductance states. *Biophys. J.* 1994(a) V.67. P.113-119.

Moreno A.P., Saez J.C., Fishman G.I., Sprav D.C. Human connexin 43 gap junction channels. Regulation of unitary conductances by phosphorylation. - *Circ. Res.* 1994(b) v.74. P.1050-1057.

Mountcastle W.E. Some neural mechanisms for directed attention. - In.: Cerebral correlates of conscious experience. Amsterdam etc.: North-Holland Publ. Co. 1978. P.37-52.

Mountcastle W.E., Lynch J., Georgopoulos A. Posterior parietal association cortex of the monkey: command function for operations within extrapersonal space. - *J. Neurophysiol.*, 1975. v.38. N4. P.871-908.

Musick J., Hubbard J. I. Release of protein from mouse motor nerve terminals. - *Nature.* 1972. P.279-281.

Obaid A.L., Socolar S.J., Rose B. Cell-to-cell channels with two independently regulated gates in series: analysis of functional conductance modulation by membrane potential, calcium and pH. - *J. Membr. Biol.* 1983. v.73. P.69-89.

O'Keef J. Place units in the hippocampus of the freely moving rat. - *Exp. Neurol.* 1976. v.51. P.78-109.

Payton B.W, Loewenstein W.R. Stability of electrical coupling in leech giant nerve cells: Divalent cations, propionate ions, tonicity and pH.- *Biochem. et biophys. acta*, 1968, v.150, p.156-158.

Penn R.D, Loewenstein W.R. Uncoupling of a nerve cell membrane junction by calcium-ion removal.- *Science*, 1966, v.151, p.88-89.

Perrett D.I., Rolls E.T. A technique for microiontophoretic study of single neurones in the behaving monkey- *J. Neuros-*

ci. Methods. 1985. V.12. P.289.

Perrett D.I. et al., Monitoring social signals arising from the face: studies of brain cells and behaviour. - 8-th world congress of IOP. Tampere. 1996. P.201.

Pribram K. Languages of the brain. - Stanford University Press. 1974.

Purves D., Lichtman J.M. Elimination of synapses in the developing nervous system.- Science. 1980. N.1. P.153-157.

Ramon y Cajal S. Les nouvelles idees sur la structure du systeme nerveux chez l'homme et chez les vertebres.- Paris. Reinwald. 1895.

Ranck J.B. Behavioral correlates and firing repertoires of neurons in the dorsal hippocampal formations and septum of unrestrained rats.- Hippocampus. 1975. V.2. N.5. P.207.

Ressot C. et al. Connexin 32 mutations associated with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease show two distinct behaviors: loss of function and altered gating properties. - J. Neurosci. 1998. v.18. P.4063-4075.

Revel J.P., Karnovsky M.J. Hexagonal arrays of subunits in intercellular junctions of the mouse heart and liver.- J. Cell Biol. 1967. v. 33. P.37.

Revest P.A. Inhibition of Na-dependent glutamate uptake into barnacle muscle by glutamate analogues and guanidinium- J. Physiol. 1985. V.371. P.163.

Rose B., Loewenstein W.R. Junction membrane permeability: depression by substitution of Li for extracellular Na and by long-term lack of Ca and Mg; restoration by cell repolarization.- J.Membr. Biol. 1971. v.5, p.20-50.

Rossetto M.A., Vandercar D.H. Lightweight FET circuit for differential or single-ended recording in freely moving animals- Physiol. Behav. 1972. V.9. P.105-106.

Schwartzmann G. et al. Diameter of cell-to-cell junctional membrane channel as probed with neutral molecules. - Science. 1981. v.213. P.551-553.

Self D.W., Stein L. (1992) The D1 agonists SKF 82958 and SKF 77434 are self-administered by rats. Brain Research. v.582. P.349-352.

Self D.W., Stein L. (1992). Receptor subtypes in opioid and stimulant reward. *Pharmacology and Toxicology*, 70(1), 87-94.

Schmitt F.O. A protocol for molecular genetic neuroscience. In: *Molecular genetic neuroscience*. 1982. v.1. Raven Press. New York. P.1-9.

Shapovalov A.I. Interneuronal synapses with electrical, dual and chemical mode of transmission in vertebrates.- *Neuroscience*. 1980. v.5. P.1131.

Sherrington C.S. The central nervous system. V.3. In: *A Text-book of Physiology*. Ed.: Foster M., London, 1897.

Sheperd G.M. The nerve impulse and the nature of nervous functionю - Neurones without impulses - Eds. Roberts A. 1981.

Shepherd G. *Neurobiology*. Oxford University Press. 1983.

Simon A.M., Goodenough D.A. Diverse functions of vertebrate gap junction. - *Trends Cell Biol*. 1998. V.8. P.477-483.

Simpson I., Rose B., Loewenstein W.R. Size limit of molecules permeation the junctional membrane channels.- *Science*. 1977. 195. P.294-296.

Skinner B.F. *The behavior of organisms*. 1938. New York, Appleton-Century-Crofts.

Skinner B.F. *Science and human behavior*.- Free Press. New York. 1953.

Spitzer N.C. Studies of the early development of neuronal function.- In: *Abstrs 3rd Intern. Meet. Intern. Soc. Develop. Neurosci. Patras. Greece*. 1982. p.209.

Stauffer K.A. The gap junction proteins beta 1-connexin (connexin-32) and beta 2-connexin (connexin-26) can form heteromeric hemichannels. - *J. Biol. Chem*. 1995. v.270. P.6768-6772.

Stein L. In vitro reinforcement of hippocampal bursting: Possible cellular and molecular mechanism of drug reward. *Reg. Peptides*. 1994. v.54 P.285-286.

Stein L. Biological substrates of operant conditioning and the operant-respondent distinction *J. Exp. Anal. Behav*. 1997.

v. 67. P.246-253.

Stein L. Biological substrates of operant conditioning and the operant-respondent distinction - J. Exp. Anal. Behav. 1997. v. 67. P.246-253.

Stein L., Belluzzi J.D. Cellular investigations of behavioral reinforcement. // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. V.13. P.69-80.

Stein L., Belluzzi J.D. Reward transmitters and drugs of abuse. In: J.Engel and L.Oreland (Eds.), Brain reward systems and abuse 1987. (pp.19-33) New York: Raven Press.

Stein L., Belluzzi J.D. Operant conditioning of individual neurons. In: M.L. Commons, R.M.Church, J.R.Stellar, A.R.Wagner (Eds.). Quantitative analyses of behavior. V.7. Biological determinants of reinforcement and memory 1988. (pp. 249-264). Hillsdale, NJ: Erlbaum.

Stein L. and Belluzzi, J.D. Cellular investigations of behavioral reinforcement. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 1989. v.13. P.69-80.

Stein L., Xue B.G., Belluzzi J.D. A cellular analogue of operant conditioning.- Journal of the Experimental Analysis of Behavior. 1993. N.60. P.41-53.

Stein L., Xue B.G., Belluzzi J.D. In vitro reinforcement of hippocampal bursting: a search for Skinner's atoms of behavior.- Journal of the experimental analysis of behavior. 1994. N.61. P.155-168.

Torndike E.L. Animal intelligence, New York, 1911. Macmillan.

Thorpe S.J., Rolls E.T., Maddison S. The orbitofrontal cortex: neuronal activity in the behaving monkey. - Exp. Brain Res. 1983. v.49. P.93-115.

Tsukahara N. Synaptic plasticity in the mammalian central nervous system.- Annu.Rev.Neurosci.- 1981, N.2, P.351-379.

Unger V.M. et al. Projection structure of a gap junction membrane channel at 7Å⁰ resolution. - Nature. 1997. v.4. P.39-43.

Unwin P.N.T. Gap junction structure and the control of cell to cell communication. - CIBA Found. Symp. 1987. V.125. P.78-

91.

Yarowsky P. et al. Neuronal activity and energy metabolism. - Symp. Summary. 1980. v.14. P.2353-2362.

Xue B.G., Belluzzi J.D., Stein L. In vitro reinforcement of hippocampal bursting activity by the cannabinoid receptor agonist CP-55,940.- Brain Research, 1993, V.626. P.272-277.

Watanabe M. Prefrontal unit activity during delayed conditional discriminations in the monkey.- Brain Res. 1981. V.225. N1. P.51.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	5
РАЗДЕЛ I. ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКОЙ ВЗАИМОСВЯЗИ НЕЙРОНОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА	
Глава 1. Синаптические механизмы межнейронного взаимодействия	10
Синапс	11
Последовательные стадии реализации процесса ней- ромедиаторного взаимодействия	13
Пептиды - особый класс нейромедиаторов	17
Влияние различных фармакологических факторов на процесс нейромедиаторного взаимодействия.....	19
Глава 2. Нейробиологические аспекты формирования синаптической связи	21
Медиаторный и коннексонный принцип биохимическо- го межклеточного объединения	22
Нейробиологические закономерности смены типов межнейронных контактов в ходе онтогенеза.....	29
Теория интегративной деятельности нейрона	32
Глава 3. Принципы метаболической межнейронной коо- перации	39
Быстродействующая система локальной аппликации биологически активных веществ	40
Анализ распространения органических молекул в сре- де функционально активных нейронов	45
Особенности аминокислотного обмена нервной клетки в период генерации потенциала действия	50
Динамика хемореактивных свойств нервных клеток	57
Общее заключение по I разделу	65

РАЗДЕЛ II. АНАЛИЗ КОЛЛЕКТИВНЫХ ФОРМ НЕЙРОННОЙ АКТИВНОСТИ В ПОВЕДЕНИИ.....	72
Глава 1. Нейронные механизмы инструментального пищедобывательного поведения	73
Методика	73
Результаты исследования	76
Резюме	83
Глава 2. Принцип оперантной детерминации	85
“Закон эффекта” Э.Торндайка	88
Общая теория функциональных систем	92
Эволюция простейших функциональных систем...95	
Репарация нуклеотидных макромолекул	96
Репарационная активность как фактор биогене- за.....	100
Резюме	103
Глава 3. Особенности проявления “закона эффекта” в организации сложных нейронных систем	106
Методика	106
Сравнительный анализ поведенческой специализации нервных клеток	108
Паттерны реальные и мнимые	117
Резюме	123
Глава 4. Динамика нейронной активности в условиях формирования нового поведенческого акта.....	125
Методика	127
Результаты исследования (поведение)	128
Результаты исследования (нейроны).....	130
Стадия совершенствования поведения	136
Резюме	137
Глава 5. “Закон эффекта” и нерцепрокные формы междоминантного взаимодействия	138
Методика	139
Результаты исследования	141

Обсуждение результатов	148
Резюме	152
Общее заключение по II разделу	153

РАЗДЕЛ III. ПРИНЦИПЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ НЕЙРООПЕРАНТНЫХ ГРУПП

Глава 1. Взаимос<u>о</u>действие как фактор стабильности межнейронных отношений.....	155
---	------------

Глава 2. Взаимос<u>о</u>действие как фактор возникновения надкомпонентной идеальной реальности	161
---	------------

Методика	161
Результаты исследования и их обсуждение	165

Глава 3. Анализ синаптических механизмов на основе методики многоканального биоуправляемого микроионофореза.....	176
---	------------

Методика	177
Результаты исследования и их обсуждение.....	182
Резюме	187

ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	191
------------------------	------------

ЛИТЕРАТУРА.....	197
------------------------	------------

ОГЛАВЛЕНИЕ	219
-------------------------	------------

ПРИЛОЖЕНИЯ	222
-------------------------	------------

Приложение 1. Факторы, определяющие параметры быстрогодействия системы микроаппликации	222
--	-----

Приложение 2. Устройство для устранения артефактов, возникающих при микроионофорезе	227
---	-----

Приложение 3. Модифицированный вариант блока питания источников микротока	229
---	-----

Приложение 4. Пневмо-ионофоретическое устройство для подведения биологически активных веществ	232
---	-----

Приложение 5. Микрозонд для функционального нейрохимического анализа	235
--	-----

ПРИЛОЖЕНИЕ I

Факторы, определяющие параметры быстродействия системы микроаппликации

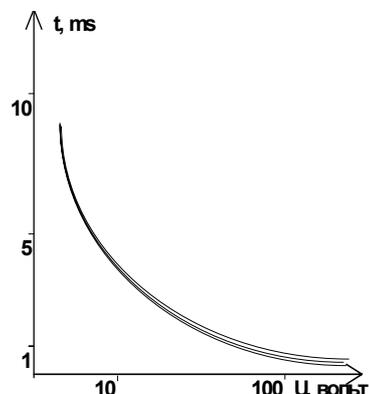
Как уже отмечалось в начале монографии, высокая скорость протекания нейрохимических реакций, строгая их локальность предъявляют особые требования к техническим устройствам, предназначенным для регистрации и моделирования подобных процессов.

Сложность стоящих здесь проблем мы в полной мере ощутили на собственном опыте в ходе разработки рассмотренной выше (рис.6) системы микроаппликации биологически активных веществ. Уже на самых первых стадиях решения поставленной задачи, стало ясно, что ни один из известных на сегодняшний день электромеханических преобразователей не позволяет достичь необходимого уровня быстродействия. Складывалось даже впечатление, что обеспечить время срабатывания этой системы в десятые доли миллисекунды, можно только в том случае, если подвижная часть микроаппликатора не будет включать в себя столь массивную конструкцию, как площадка с зафиксированной на ней длинной стеклянной микропипеткой, полностью заполненной раствором биохимических реагентов (рис.6). Но тогда пришлось бы отказаться от самой идеи пушпульного формирования в экстраклеточной среде замкнутой зоны выхода вещества (рис.6 Б).

Поиск методического компромисса заставил нас обратить внимание на одну весьма примечательную особенность работы обычных координатных гальванометров (сельсинов) чернилопишущих приборов (Н338, НТ 3705), полоса пропускания которых, как известно, составляет всего 0-100 гц. Соответственно, штатное напряжение на обмотках их сельсинов не должно превышать уровня 10 вольт. Так вот, оказалось, что в случае увеличения амплитуды подаваемого на них в импульсном режиме напряжения до 150-300 вольт, наблюдается резкое снижение вре-

мени задержки их срабатывания с 7 мсек до 0,3 - 0,5 мсек при достаточно большой амплитуде возникающих двигательных ответов (до 50 -100 мкм). Этого более, чем достаточно, для обеспечения надежного выхода стеклянного капилляра 2 из наружной микропипетки 3 (рис.10).

На рис.53 представлены типичные графики зависимости времени задержки срабатывания микроаппликатора



от величины подаваемого на него напряжения.

Обращает на себя внимание значительный разброс временных параметров работы сельсинов одной и той же марки. Отсюда можно сделать вывод, что при выборе конкретного электромеханического преобразователя следу-

Рис.53. Зависимость скорости работы системы микроаппликации от амплитуды запускающего сигнала ($\Delta T=10$ мс). По оси абсцисс - напряжение, в. По оси ординат - время от момента подачи переднего фронта импульса до момента образования замкнутой зоны выхода вещества, мсек.

ет руководствоваться не только его паспортными данными, но и индивидуальными характеристиками, проявляющимися в области сверх номинальных напряжений.

Естественно, что длительность сигнала запуска в такого рода нештатных режимах работы не может превышать 10 мсек. Иначе происходит быстрое перегорание обмоток координатных гальванометров. Нетрудно посчитать, что при паспортной величине их постоянного сопротивления 5 ом и напряжении 150 вольт, сила протекающего через них тока будет достигать 30 ампер! Это значит, что при работе в импульсном режиме основная компонента комплексного

сопротивления сельсина (его импеданс) определяется не активной, а исключительно индуктивной составляющей.

Для избежания опасности случайного выхода микро-аппликатора из строя нами была разработана несложная схема ограничения длительности подаваемых на него электрических импульсов (см. рис.7). Однако необходимость использования подобных дополнительных устройств ни в коей мере не умаляет очевидных преимуществ предлагаемого способа по сравнению с другими аналогичными техническими решениями.

В предыдущих разделах монографии (см. стр.41, 54, 62, 63) уже обсуждались особенности реализации метода микроионофореза и микроструйной аппликации биологически активных веществ. Но сравнительный анализ разных методических подходов был бы неполным, если не рассмотреть еще один довольно известный прием решения подобных задач, а именно, подведение химических соединений непосредственно из регистрирующего микроэлектрода [Stein L., Belluzzi J., 1987; 1989].

На самом деле, попытка воспроизвести этот, на первый взгляд, очень простой и легко реализуемый способ, по целому ряду причин не позволяет достичь желаемых результатов. Прежде всего, величина сопротивления микроэлектрода в случае его заполнения “экологически валидными” для нервных клеток растворами органических соединений (например, 0,15 М дофамин, приготовленный на 0,9% растворе NaCl [Stein L., Belluzzi J., 1987], начинает превышать соответствующие параметры входных цепей усилительного каскада. В результате, биоэлектрический сигнал от нейрона просто перестает поступать на вход усилителя биопотенциалов.

Кроме того, в случае отказа от концентрированных солевых растворов (3М KCl или 3М NaCl) в пользу изотонических жидкостей, резко возрастает уровень поляризации кончика микропипетки, а также амплитуда скачков постоянного напряжения на входе микроэлектродного усилителя, что неизбежно приводит к его “запиранию”, а зачастую да-

же, и к полному выходу из строя. Причем, приложение к стволу части микроэлектрода давления даже в 0,1 - 0,2 атм, не говоря уже о больших величинах, вызывает значительные изменения уровня его постоянного потенциала. Это явление позднее было даже положено в основу разработки специализированных измерительных устройств для определения гидростатического давления внутри отдельной клетки (см. техническое описание "Micro-pressure system" M-900, фирмы World Precision Instruments, ink.).

Но особенно серьезные трудности связаны с процессом выдавливания раствора из микроэлектрода. Как выяснилось, при диаметре его кончика 1-3 мкм для этого необходимо приложить давление в несколько атмосфер. Коммутация такого давления в принципе не может быть осуществлена в экстренном режиме. Даже при использовании самых современных типов электромагнитных вентилях, величина времени задержки будет составлять здесь многие сотни миллисекунд, что делает невозможным реализацию режима импульсной биоуправляемой аппликации.

Так, например, при исследовании нейронов гиппокампа [Stein L., Belluzzi J., 1989], обладающих характерной вспышкообразной формой разрядной активности, длительность межпачковых интервалов составляет всего 150 - 250 мсек. Используя в качестве микроаппликатора регистрирующий электрод, в принципе невозможно успеть зафиксировать появление какой-либо аномальной вспышки импульсации и обеспечить ее избирательное подкрепление инъекцией соответствующего раствора.

Более того, огромная величина сил поверхностного натяжения в стеклянных микропипетках неизбежно приводит к тому, что даже после приложения к их стволу части высокого давления выход раствора из них начинается с задержкой около 500 мсек. Причем, конкретная величина такого рода латентного периода сильно зависит от диаметра кончика микроэлектрода, контролировать который в ходе реального нейрофизиологического опыта не представляется возможным.

Стоит также отметить и то обстоятельство, что после своего выдавливания, подводимое вещество неизбежно “расползается” по всему объему внеклеточной жидкости. Т.е. его инъекция, как и в случае микроионофореза или микроструйной аппликации, в принципе не позволяет обеспечить образование в экстраклеточной среде замкнутых зон выхода вещества (см. рис.11). Здесь можно лишь говорить о добавлении подводимого субстрата к непрерывно меняющейся по своему компонентному составу внеклеточной жидкости.

Все эти методические нюансы, на наш взгляд, заслуживают серьезного внимания, поскольку в той или иной форме с аналогичными проблемами приходится сталкиваться и в случае выбора других вариантов решения подобных задач.

ПРИЛОЖЕНИЕ II

Устройство для устранения артефактов, возникающих при микроионофорезе

Для устранения артефактов микроионофорической аппликации путем временного разделения (рис.49) активного сигнала и электрических помех, возникающих в момент переключения источников микротока, нами было создано специальное устройство, которое подключалось к соответствующим выходным цепям аналогоцифрового преобразователя, представленного на рис.48.

Принципиальная схема этого устройства приведена на рис.54. Основным функциональным блоком здесь является набор четырех взаимосвязанных D- триггеров (D11 - D14), выполняющих функцию оперативной памяти, в которой фиксируется текущее значение средней частоты разрядов нейрона в каждый межспайковый период времени. В соответствии с этим, на один из выходов устройства, каждый из которых был подключен к ТТЛ- входу запуска источника микротока M-160 (WPI), поступает сигнал потенциального его включения. В качестве индикаторов, отражающих текущее положение эффективного канала выступали светодиоды VD1 - VD8.

Вопрос о том, будет ли данный сигнал запускать выход того или иного вещества решался путем программирования до начала эксперимента соответствующих блоков M-160 в зависимости от задач конкретного исследования. С этой целью на блоке, состоящем из восьми microiontophoresis programmer (WPI , inc), соответствующие переключатели переводились из режима "reset" в положение "operate". В случае полного торможения разрядной активности (поз. "0") кратковременное отключение входного каскада усилителя производилось в момент появления на выходе интегратора напряжения нулевой величины. Понятно, что вероятность генерации нервной клеткой именно в этот момент (1 мсек) очередного потенциала действия была близка к нулю.

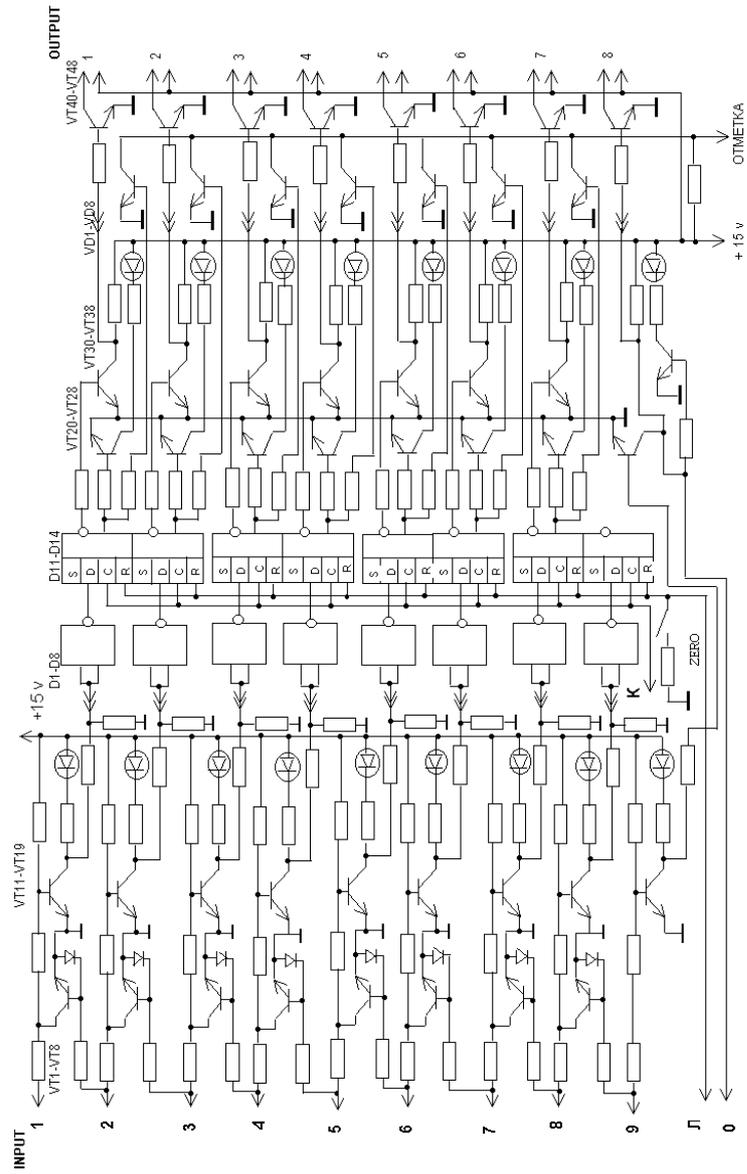


РИС.54

ПРИЛОЖЕНИЕ III

Модифицированный вариант блока питания источника микротока

Применяемые для микроионофореза стандартные программируемые источники микротока (М-106) при всех своих достоинствах обладают одним серьезным недостатком. В качестве блока питания в них используется преобразователь напряжения, трансформирующий э.д.с. встроенной аккумуляторной батареи (+12v) в постоянное напряжение +100 v, подаваемое на схему стабилизации (рис.55).

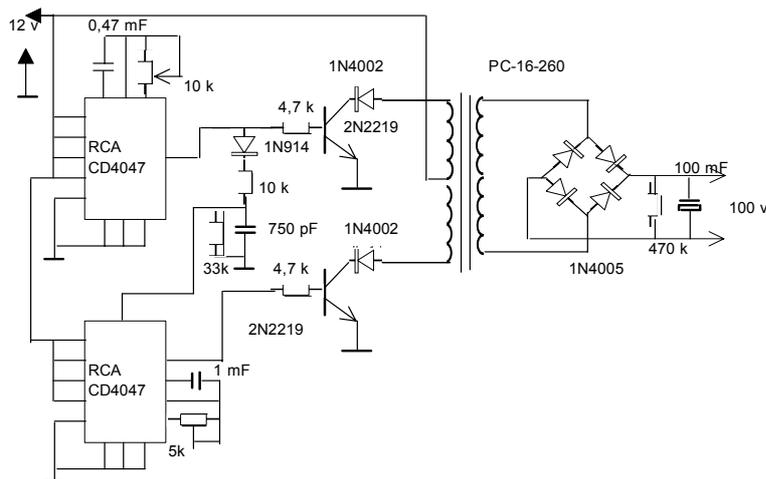


Рис.55. Блок преобразования напряжения программируемого источника микротока М-106

Неизбежным следствием такого слишком “цивилизованного” технического решения является появление на выходе источника микротока характерной наводки (приблизительно 200 гц), которая наблюдается непосредственно в период выхода вещества из микропипетки.

При определении химической чувствительности регистрируемых нейронов к тому или иному веществу, нали-

чие подобного артефакта часто не имеет принципиального значения. В случае же необходимости, блок преобразователя заменяют высоковольтной батареей (например, "Молния" от фотовспышки), шунтируя ее последовательным подключением мощного сопротивления 5 W; 15 - 30 ком. В результате, наводка 200 гц, естественно устраняется, и перед экспериментатором остается лишь одна проблема - проблема борьбы с импульсными артефактами, возникающими в момент включения и выключения блока М-106. А это уже значительно проще. Помимо рассмотренного в приложении II метода временного разделения импульсных потоков, здесь вполне возможно применение различных дискриминаторов уровня (амплитуды) электрических сигналов.

Однако при наличии восьми одновременно работающих в режиме биоуправляемого эксперимента блоков М-106 (рис.48) такой способ является крайне неудобным, прежде всего, из-за ограниченности срока годности любых высоковольтных источников постоянного напряжения (3 месяца) и большой их стоимости.

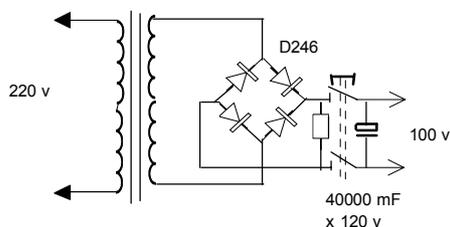


Рис.56 Модифицированный блок питания источника стабилизированного микротока.

Поэтому в наших экспериментах применялся другой метод решения указанной проблемы. Учитывая, что величина тока мироинофореза, как правило, составляет всего 10 - 200 нА, т.е. по сути дела, соответствует току утечки обычных электролитических конденсаторов, вместо высоковольтных батарей, мы использовали схему, представленную на рис.56. Стоит отметить, что никаких дополнительных сглаживающих фильтров, подавляющих помеху 50 гц от электросети, в данном случае не требуется. Зарядка элек-

тролитов может производиться постоянным током с любым уровнем пульсаций.

При величине емкости конденсаторов 40000 мкф, одного их заряда, как выяснилось, хватает на несколько дней работы. Однако, чаще всего, перед началом каждого опыта мы, независимо от уровня разрядки конденсаторной батареи, на несколько минут подключаем ее трансформаторный вход к электросети.

Для увеличения срока работы, светодиоды на лицевой панели блоков М-106 отключали. При этом индикаторами рабочего состояния прибора являлись их стрелочные гальванометры.

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

Пневмо-ионофоретическое устройство для подведения биологически активных веществ

Рассмотренные в III разделе данные свидетельствуют о том, что биологическая значимость того или иного хемотимула определяется не только его индивидуальными характеристиками, но и параметрами того биохимического контекста в рамках которого он оказывается представлен на уровне исследуемого нейрона. С этих позиций объективный анализ процесса нейрхимического взаимодействия предполагает не только локальность и строгую временную параметризацию соответствующих воздействий, но и, учитывая особенности синаптических влияний, наличие высокого уровня их пространственной структурированности.

В связи с этим неизбежно возникает вопрос о возможности воспроизведения на основе известных сегодня методов “гештальных” форм биохимического воздействия на отдельную нервную клетку.

На первый взгляд, метод микроионофореза в определенной степени моделирует ситуацию одновременного синхронного воздействия на множество разных синаптических входов нервной клетки. Действительно, как уже отмечалось, зона выхода вещества в этом случае оказывается весьма значительной.

Но именно это обстоятельство неизбежно приводит к тому, что при одновременной микроионофоретической инъекции из боковых стволов одного и того же хемотропа разных веществ неизбежно происходит гомогенизация их влияния на разные локусы плазматической мембраны нейрона. Возможно, определенная структурированность (неоднородность мозаичного типа) и в этом случае все-таки имеет место. На это косвенным образом указывают данные А.А.Пивоварова [Пивоваров А., 1999].

Но в целом, параметры возникающей в этом случае на уровне отдельной клетки пространственной биохимической организации оказываются неопределенными.

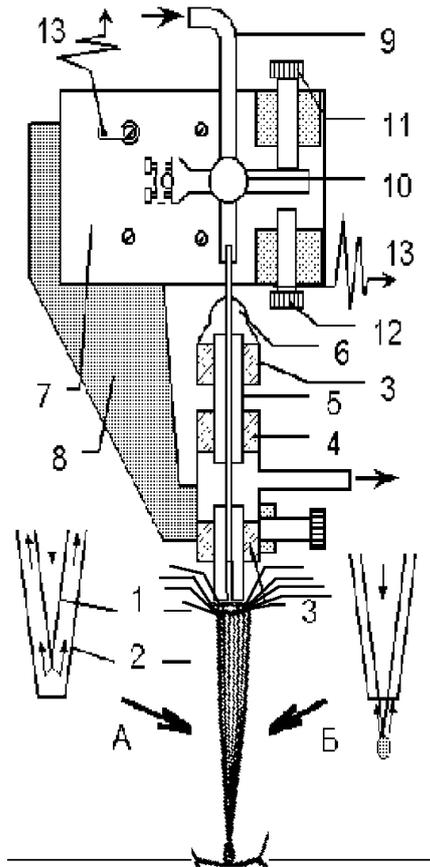


Рис.57. Устройство для пневмоточкового подведения к отдельному нейрону контролируемого паттерна биологически активных веществ. 1, 3-13: обозначения как на рис.6; 2- 12-ти канальный хемотрод, боковые стволы которого заполнены растворами различных органических соединений.

На наш взгляд, сделать этот процесс контролируемым можно только в том случае, если объединить метод многоканального микроионофореза с методом прямой микрокапельной аппликации.

На рис.57 представлена схема устройства, позволяющего решить эту задачу. Отличие этого прибора от обычного микроаппликатора (рис.6) состоит в том, что в

качестве наружной микропипетки используется 12-ти канальный хемотрод, боковые стволы которого заполнены растворами подводимых веществ. Микроионофоретическая инъекция из них осуществляется непрерывно. Однако выделяемые при этом вещества не попадают в экстраклеточную среду, а сразу же удаляются через канал отрицательного давления, не достигая поверхности исследуемой нервной клетки.

Импульсное их подведение к нейрону происходит только в момент подачи на сельсин микроаппликатора короткого электрического импульса. В результате, центральный капилляр, из которого под давлением происходит непрерывное выделения раствора Рингера, выдвигается вперед по отношению к краю хемотрода. И в этой области образуется особая замкнутая зона выхода вещества, обладающая характерной биохимической структуризацией мозаичного типа.

ПРИЛОЖЕНИЕ 5

Микрозонд для функционального биохимического анализа

Рассмотренные выше данные позволяют сделать логически вполне оправданное предположение о том, что установленные ранее различия в развитии инструментальных форм нейрохимического взаимодействия у разных по специализации нервных клеток могут быть обусловлены именно особенностями метаболического обеспечения их потенциалов действия. Имеются в виду особенности не только молекулярно-биологического плана, но и временных параметров реализации процесса трансмембранного переноса соответствующих метаболических факторов. Это заставляет обратить особое внимание на разработку новых устройств, позволяющих существенным образом повысить уровень чувствительности существующих методов определения нейрохимического состава нервной ткани в период ее функциональной активности.

Как известно, в практике нейрофизиологических и нейрохимических исследований широко применяются различные устройства для взятия и анализа проб экстраклеточной жидкости. При всем многообразии их конструкций все они включают в себя в качестве основного функционального элемента микропипетку, которую вводят в исследуемую биологическую структуру и на определенное время подсоединяют к насосу отрицательного давления. В результате, объем микропипетки частично заполняется исследуемым раствором. Получаемый таким образом экстракт подвергают в дальнейшем биохимическому анализу.

Основным недостатком известных технических решений является низкий уровень быстродействия и, как следствие, невозможность экстренного отбора внеклеточной жидкости непосредственно в период функциональной активности отдельных клеточных элементов. Между тем, характерной особенностью организации внутренней среды живого организма является наличие именно быстропроте-

кающих в микрообъемах жидкости специфических изменений ее биохимического состава, которые обусловлены активностью отдельных клеточных единиц.

Целью разработанного в настоящей работе устройства для микрозондирования экстраклеточной среды является значительное повышение скорости взятия микропроб исследуемой жидкости.

Достижимый технический результат - возможность импульсного отбора части экстраклеточной среды (в течение 1 мсек и более) при условии начала реализации этого процесса через 0,3 мсек после подачи сигнала запуска устройства - обусловлен тем, что внутрь микропипетки помещают заполненный жидким силиконом капилляр, который в верхней своей части зафиксирован на площадке быстродействующего шагового устройства, обеспечивающего ступенчатый подъем капилляра и прилегающего к нему слоя силиконовой жидкости.

Общий вид микрозонда для функционального биохимического анализа представлен на рис.58.

Устройство включает в себя коаксиально расположенные по отношению друг к другу стеклянный капилляр 1 и стеклянную микропипетку 2, которая зафиксирована с помощью уплотнителя 3 внутри тройника 4, подсоединенного к насосу отрицательного давления ($P = - 0,05$ атм.). Заполненный жидким силиконом капилляр 1 помещен в отрезок инъекционной иглы 5, в верхней части которой находится резиновый колпачок 6. Для герметизации механических соединений здесь также используются силиконовые уплотнители соответствующего диаметра.

Создание герметизирующего подвижного слоя силикона между капилляром 1 и микропипеткой 2 осуществляется путем непродолжительной подачи давления ($P = + 1.0$

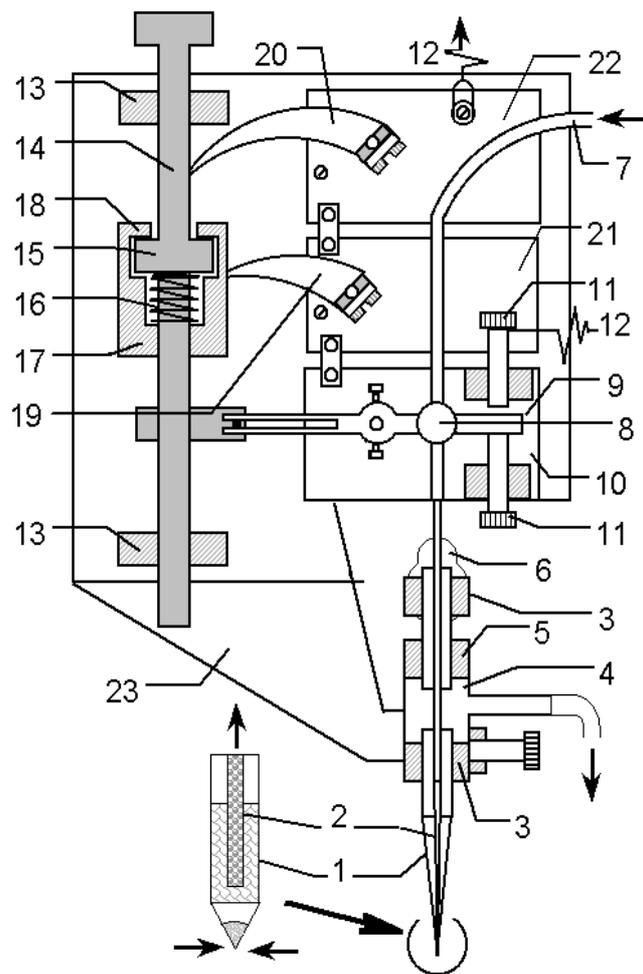


Рис.58. Микрозонд для функционального биохимического анализа. Подробное описание в тексте.

атм.) через полихлорвиниловый катетер 7, плотно надетый на микрокапилляр 1 и зафиксированный винтом 8 на осевой площадке 9 координатного гальванометра 10. Исходное положение капилляра 1 по отношению к микропипетке 2, а также амплитуда его перемещения регулируются двумя ограничительными винтами 11. Они же используются в качестве электрических контактов, которые при помощи проводников 12 включены в цепь контроля начала и окончания режима зондирования.

Шаговое устройство, обеспечивающее ступенчатый подъем капилляра 1 внутри микропипетки 2, состоит из свободно-перемещающейся во втулках 13 металлической оси 14 (с упором 15), на которой расположены пружина 16 и подвижный шток 17 с навинчивающимся на него стаканом 18. Фиксаторы 19 и 20 соответствующих координатных гальванометров 21 и 22 служат для удержания оси 14 и штока 17 в исходных положениях.

Микрозонд (рис.58) закрепляется в держателе 23, который установлен на штанге позиционера, обеспечивающего точные микроперемещения в области локализации тестируемой клетки.

Устройство работает следующим образом. В исходном положении заполненный жидким силиконом капилляр 1 и прилегающий к нему снаружи слой силиконовой жидкости находятся в нижнем положении микропипетки 2. Одновременная подача на координатные гальванометры 10 и 22 сигналов их запуска, амплитудой 150 вольт и продолжительностью, соответственно, 5 мс и 3 мс, приводит к тому, что фиксатор 20 отходит от оси 14, обеспечивая свободное ее перемещение на величину зазора между упором 15 и стаканом 17. При этом закрепленный на площадке 9 катетер 7 вместе с капилляром 1 поднимаются вверх, вследствие чего экстраклеточная жидкость заполняет освободившуюся часть объема микропипетки 2.

Запуск координатного гальванометра 21

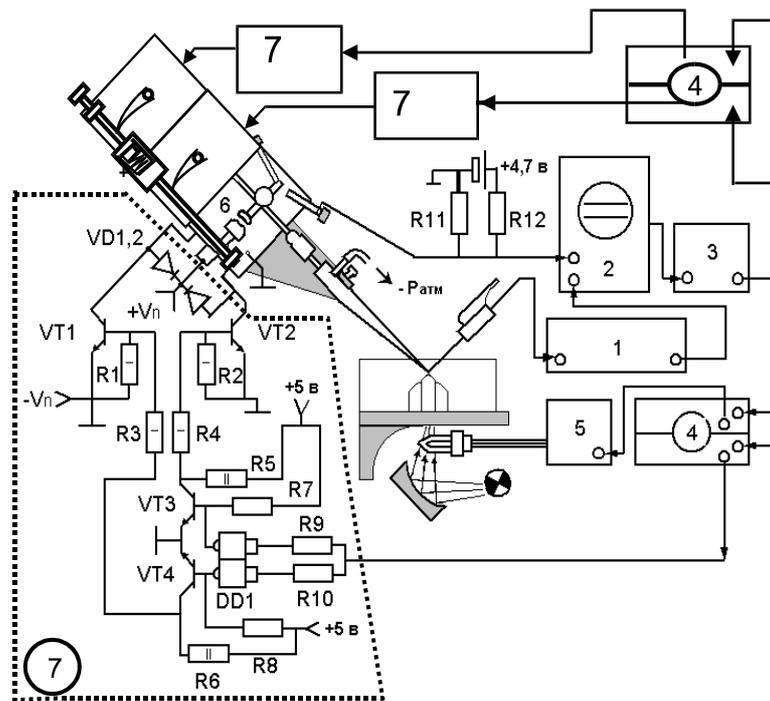


Рис.7. Принципиальная схема установки для проведения функционального микрозондирования экстраклеточной среды. 1-6 - обозначения как на рис. 3; 7- высоковольтные блоки питания быстродействующих электромеханических преобразователей.

41

осуществляется другим электрическим импульсом (150 вольт; $\Delta T = 5$ мс), который подается с задержкой в 5 мс от момента начала подачи первых двух управляющих сигналов (идущих на гальванометры 10 и 22). В результате, фиксатор 19 освобождает шток 17, который под действием пружины 16 возвращается в исходное по отношению к оси 14 положение (рис.7). Минимальная продолжительность периода времени между двумя последовательными циклами взятия микропроб составляет $\Delta T = 10$ мс.

Определение эффективности разработанной биотехнической системы

Оценка эффективности предложенного технического решения производилась в рамках исследования полуинтактного препарата нервной системы беспозвоночных животных *Helix Lucorum*.

Импульсная аппликация раствора ЗН-лейцина (1 мккю/мл) с последующей быстропротекающей отмывкой препарата в зоне инъекции осуществлялась при помощи микроаппликатора (рис.3), работающего в режиме кратковременного ($\Delta T = 3$ мс) ритмического ($F = 0,2$ гц) подведения вещества к отдельному нейрону. Запуск микрозонда, находящегося в области локализации той же самой клетки, осуществлялся синхронно с запуском микроаппликатора, но с определенной временной задержкой. Величина ее была строго постоянной в рамках каждой серии тестирования и составляла, соответственно, 0 мс; 1 мс; 2 мс; 3 мс; 4 мс. Во время каждой из этих пяти серий производилось 40 последовательных микроаппликаций, сопряженных с взятием 40 суммарных микродоз экстраклеточной среды. Объем одной микропробы составлял 0,05 мкл (2 мкл : 40).

Концентрация ЗН-лейцина в экстракте определялась на основе метода контактной автордиографии. С этой целью после завершения каждой отдельной серии тестирования капилляр 1 (рис.) при помощи регулировочного винта 11 перемещали в нижнее положение. При этом содержимое микропипетки 2 в виде капли раствора выводилось на предметное стекло, которое после высушивания помещали на фоточувствительный слой рентгеновской бумаги для автордиографических исследований.

Время экспозиции радиоавтографов составляло 10 дней. При проявке использовали проявитель Д-19, а в качестве фиксажа - 30% раствор гипосульфита. Концентрацию ЗН-лейцина в экстракте оценивали путем подсчета количества зерен восстановленного над контуром соответ-

вующей капли раствора серебра на единице ее площади, размером 10 мкм x 10 мкм. При статистической обработке использовали критерий Стьюдента. Полученные результаты сопоставляли с данными контрольных определений, производимых при не работающем микроаппликаторе, а также с контактными радиоавтографами исходного раствора ЗН-лейцина, заполняющего микроаппликатор.

Получены следующие данные.

1. Исходный раствор ЗН-лейцина, который использовался для заполнения микроаппликатора (1 мккю/мл).

Плотность зерен восстановленного серебра на единице площади радиоавтографа: $24,2 \pm 2,3$

2. Физиологический раствор при неработающем микроаппликаторе (фон): $0,9 \pm 0,3$

3. Первая фаза подведения ЗН-лейцина (период 0-1 мс от момента запуска микроаппликатора): $17,4 \pm 0,7$

4. Вторая фаза подведения ЗН-лейцина (период 1-2 мс от момента запуска микроаппликатора): $25,1 \pm 1,8$

5. Третья фаза подведения ЗН-лейцина (период 2-3 мс от момента запуска микроаппликатора): $24,8 \pm 2,0$

6. Четвертая фаза подведения ЗН-лейцина (период 3-4 мс от момента запуска): $4,7 \pm 0,9$

7. Пятая фаза подведения ЗН-лейцина (период 4-5 мс от момента запуска микроаппликатора): $0,9 \pm 0,4$

Таким образом, как показывают полученные результаты, найденное техническое решение позволяет осуществлять функциональное микрозондирование экстраклеточной среды с временным разрешением ($\Delta T = 1$ мсек), которое на несколько порядков превосходит возможности известных аналогичных устройств.