

Гайнутдинова Т. Х., Андрианов В. В., Силантьева Д. И.

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗМЕНЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ
КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ Ca^{2+} НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМАНДНЫХ
НЕЙРОНОВ ОБУЧЕННЫХ И СЕНСИТИЗИРОВАННЫХ УЛИТОК**

Адрес статьи: www.gramota.net/materials/1/2008/5/13.html

Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

Альманах современной науки и образования

Тамбов: Грамота, 2008. № 5 (12). С. 35-37. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: www.gramota.net/editions/1.html

Содержание данного номера журнала: www.gramota.net/materials/1/2008/5/

© Издательство "Грамота"

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: www.gramota.net

Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: almanac@gramota.net

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗМЕНЕНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ Ca^{2+} НА ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОМАНДНЫХ НЕЙРОНОВ ОБУЧЕННЫХ И СЕНСИТИЗИРОВАННЫХ УЛИТОК

Гайнутдинова Т. Х., Андрианов В. В., Силантьева Д. И.
Казанский физико-технический институт КазНЦ РАН
Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 06-04-48834)

Кальций - один из наиболее распространенных ионов в живых организмах. Ионы кальция, поступающие внутрь клетки во время ее возбуждения, с одной стороны приводят к изменению свойств ионных каналов мембраны, а с другой стороны служат сигналами для активации различных биохимических реакций. Таким образом, ионы Ca^{2+} , осуществляя связь между электрическими явлениями, происходящими в поверхностной мембране клетки, и реакциями, протекающими внутри нейрона, принимают непосредственное участие в интегративной деятельности нервной клетки [Костюк П.Г. 1986: 3; Berridge M.J. 1998: 7; Blackwell K.T., Alkon D.L. 1999: 8; Зефирова А.Л., Ситдикова Г.Ф. 2002: 2; Verkhatsky A. 2005: 14]. Биохимический механизм такого запуска состоит из двух основных звеньев: во-первых, поступающие в клетку во время ее возбуждения ионы Ca^{2+} взаимодействуют со специфическими нейронными белками, кальмодулином и тропонином С; во-вторых, комплексы Ca^{2+} -белок взаимодействуют со специфическими энзиматическими системами, обеспечивающими фосфорилирование других белков, непосредственно участвующих в выполнении соответствующей клеточной функции [Brini M., Carafoli E. 2000: 9; Rizzuto R. et al. 2002: 12; Rusakov D.A. 2006: 13].

Известно, что одним из эффектов воздействия высокой внеклеточной концентрации ионов Ca^{2+} является стабилизация мембраны [Николс и др., 2003: 5]. Было установлено, что повышение концентрации этих ионов не изменяет величину потенциала покоя и в то же время значительно увеличивает критический уровень деполяризации. В результате такого сочетания пороговый потенциал и, соответственно пороговая сила тока, повышаются в прямой зависимости от концентрации ионов Ca^{2+} [Ходоров Б.И. 1975: 6]. Ранее нами было показано [Гайнутдинов и др., 1998], что в командных нейронах оборонительного рефлекса виноградной улитки при выработке условного оборонительного рефлекса и долговременной сенситизации происходит снижение мембранного и порогового потенциалов. Поэтому представлялось интересным проследить, как будут меняться эти параметры нейронов у интактных, обученных и сенситизированных животных при изменении концентрации кальция в омывающем растворе в сравнительном аспекте.

В экспериментах использовались половозрелые особи виноградной улитки *Helix lucorum*, однородные по весу и размеру. Моллюсков содержали небольшими группами (по 15 - 25 особей) в стеклянных террариумах, при комнатной температуре, высокой влажности и избытке пищи. До начала эксперимента улитки не менее двух недель находились в активном состоянии. Выработывался классический условный оборонительный рефлекс на постукивание по раковине. В качестве условного стимула использовали постукивание по раковине, которое в норме практически не вызывало оборонительной реакции. Безусловным стимулом служил дувок струи воздуха в отверстие легочной полости, что приводит к безусловной оборонительной реакции закрытия пневмостома. Интервал между сочетаниями стимулов был 2-4 мин., время между предъявлениями условного и безусловного стимулов - 1 сек. В эксперименте регистрировалось закрытие пневмостома в ответ на постукивание по раковине.

Долговременную сенситизацию (ДС) оборонительного рефлекса выработывали по следующей схеме: животным предъявляли электрические стимулы в область головы 4 раза в день в течение 4-х дней с интервалом в 1,5-2 часа. Длительность каждого стимула составляла 1/2 с. Ток имел следующие характеристики: прямоугольные импульсы тока амплитудой 6-8 мА, длительностью 10 мс, частотой 50 Гц. Критерием выработки ДС служило значительное увеличение времени закрытого состояния пневмостома в ответ на предъявление тестирующего раздражения по сравнению с исходной реакцией.

Для электрофизиологических экспериментов использовался препарат изолированной центральной нервной системы улитки. Перед приготовлением препарата животные охлаждались в холодной воде со льдом в течение 20-30 минут. Измерения проводились при комнатной температуре (20-22 °С) с применением внутриклеточных стеклянных микроэлектродов, имеющих сопротивление 5 - 40 МОм и заполненных 2.5М КСl. В ходе эксперимента регистрировали потенциал покоя, амплитуду потенциала действия, критический уровень деполяризации и порог генерации потенциала действия. Анализ электрических характеристик проводили на командных нейронах оборонительного поведения ЛПа3, ППа3, ЛПа2, ППа2. Регистрация биопотенциалов производилась при помощи АЦП- преобразователей непосредственно на компьютер. Результаты статистически обрабатывались с применением t-критерия Стьюдента. В статье приведены средние значения измеряемых величин и стандартные ошибки среднего ($M \pm SEM$).

Для изменения внеклеточной концентрации кальция использовались следующие растворы:

1. Обычный физиологический раствор для улиток: NaCl-80mM, KCl-4mM, $CaCl_2$ -10mM, $MgCl_2$ -5mM, $NaHCO_3$ -5mM.
2. Раствор с уменьшенным в 2 раза содержанием кальция: NaCl-80mM, KCl-4mM, $CaCl_2$ -5mM, $MgCl_2$ -5mM, $NaHCO_3$ -5mM.
3. Раствор с уменьшенным в 4 раза содержанием кальция: NaCl-80mM, KCl-4mM, $CaCl_2$ -2,5mM, $MgCl_2$ -

5mM, NaHCO₃-5mM.

4. Раствор с увеличенным в 2 раза содержанием кальция: NaCl-80mM, KCl-4mM, CaCl₂-20mM, MgCl₂-5mM, NaHCO₃-5mM.

Исследование влияния изменения концентрации кальция в окружающем растворе на электрические характеристики командных нейронов в наших экспериментах показало, что значение мембранного потенциала при различных концентрациях ионов Ca²⁺ не меняется ни в группе интактных улиток, ни в группе обученных улиток, ни в группе сенситизированных улиток. Значения порогового потенциала при вариации внеклеточного Ca²⁺ достоверно изменяются во всех трех группах (рис. 1). У интактных и сенситизированных улиток порог генерации потенциалов действия увеличивается при повышении концентрации ионов Ca²⁺ от 2,5мМ до 20мМ, что свидетельствует об эффекте стабилизации мембраны. В то же время у улиток после выработки условного оборонительного рефлекса (УОР) пороговый потенциал изменяется иначе - при повышении концентрации Ca²⁺ наблюдается совершенно другая, колоколообразная зависимость (рис. 1).

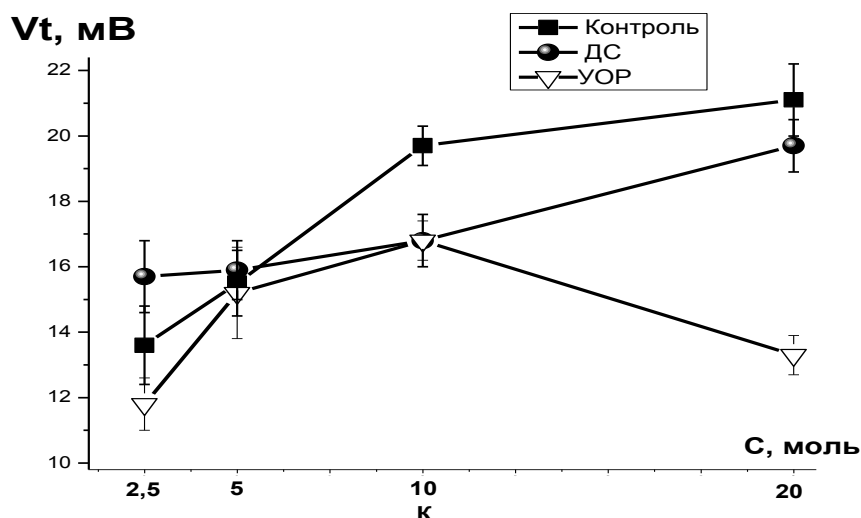


Рис. 1. Влияние различных концентраций ионов Ca²⁺ во внеклеточной среде (C, мМ) на пороговый (Vt, мВ) потенциал у интактных улиток (контроль), обученных (УОР) и сенситизированных (ДС) улиток. Значение К – 10 мМ – физиологический раствор

В опытах на гигантских аксонах кальмара было установлено, что повышение внеклеточной концентрации Ca²⁺ не изменяет потенциал покоя и в то же время значительно смещает критический уровень деполяризации в положительную сторону [Frankenhaeuser V. et al. 1957: 10; Ходоров 1975: 6]. Такая зависимость критического уровня деполяризации характерна и для нейронов улитки [Kostyuk P.G. 1984: 11]. Для того, чтобы возник потенциал действия в данных условиях, требуется большая деполяризация мембраны. В этом проявляется эффект стабилизации мембраны, суть которого состоит в том, что ионы Ca²⁺ связываются отрицательными фиксированными зарядами на наружной стороне мембраны, поэтому повышение внеклеточной концентрации ионов Ca²⁺ приводит к снижению общего наружного отрицательного заряда и как следствие – к увеличению отрицательного потенциала, действующего на ионные каналы. Сами по себе эти фиксированные заряженные группировки не должны вносить прямой вклад в измеряемый мембранный потенциал, что определяется их малой плотностью на мембране [Костюк П.Г., Крышталь О.А. 1981: 4]. Однако в комбинации с диффузионными потенциалами они могут изменять внутримембранное электрическое поле, которое определяет потенциалзависимую активацию ионной проводимости мембраны [Николлс и др. 2003: 5].

Предполагая, что при обучении может меняться конформация мембранных белков, а вследствие этого может изменяться и наружный отрицательный заряд, мы попытались применить воздействие, влияющие на величину этого фиксированного заряда мембраны. В настоящей работе на интактных улитках мы также показали, что повышение внеклеточной концентрации ионов Ca²⁺ ведет к увеличению значения порогового потенциала и смещению величины критического уровня деполяризации в сторону положительных значений в применении к командным нейронам оборонительного поведения. Это свидетельствует о снижении возбудимости этих нейронов, которое происходит при «стабилизации» мембраны. Однако нами было обнаружено, что возбудимость плазматической мембраны нейронов обученных улиток повышается при увеличении внеклеточной концентрации ионов Ca²⁺, хотя у интактных улиток повышение внеклеточной концентрации ионов Ca²⁺ ведет к стабилизации мембраны. Таким образом, нами обнаружено, что у обученных улиток пропадает эффект «стабилизации» мембраны. По-видимому, при обучении величина наружного отрицательного заряда уменьшается, возможно вследствие изменения конформации мембранных

макромолекул, и в результате этого снимается стабилизирующий эффект ионов Ca^{2+} .

Таким образом, полученные нами результаты при сопоставлении с данными, полученными на обученных улитках, показывают, что механизмы двух моделей пластичности (ассоциативное обучение и долговременная сенситизация) сильно отличаются друг от друга. Можно высказать предположение, что при обучении общее количество наружного отрицательного заряда уменьшается, и поэтому «стабилизирующий» эффект ионов Ca^{2+} не проявляется. В экспериментах же на сенситизированных улитках эффект ионов кальция как стабилизатора мембраны остается, несмотря на то, что ассоциативное обучение и сенситизация имеют одинаковую динамику изменения мембранного и порогового потенциалов.

Список литературы

- Гайнутдинов Х. Л.** Электрические характеристики командных и моторных нейронов при выработке условного оборонительного рефлекса и формирования долговременной сенситизации у улиток / Х. Л. Гайнутдинов, В. В. Андрианов, Т. Х. Гайнутдинова, Е. А. Тарасова // Журн. высш. нервн. деят. – 1998. - Т. 48. - № 6. - С. 1004-1013.
- Зефирова А. Л.** Ионные каналы нервного окончания / А. Л. Зефирова, Г. Ф. Ситдикова // Успехи физиол. наук. – 2002. – Т. 33. - № 4. – С. 3–33.
- Костюк П. Г.** Кальций и клеточная возбудимость / П. Г. Костюк. – М.: Наука, 1986. – 255 с.
- Костюк П. Г.** Механизмы электрической возбудимости нервной клетки / П. Г. Костюк, О. А. Крышталь. – М.: Наука, 1981. – 204 с.
- Николс Дж. Г.** От нейрона к мозгу / Дж. Г. Николс, А. Р. Мартин, Б. Дж. Валлас, П. А. Фукс. – М.: УРСС, 2003. – 672 с.
- Ходоров Б. И.** Общая физиология возбудимых мембран. – М.: Наука, 1975. – 405 с.
- Berridge M. J.** Neuronal Calcium Signaling // Neuron. – 1998. – V. 21. – P. 13–26.
- Blackwell K. T.** Ryanodine Receptor Modulation of in Vitro Associative Learning in *Hermisenda Crassicornis* / K. T. Blackwell, D. L. Alkon // Brain Res. – 1999. – V. 822. - № 1. – P. 114–125.
- Brini M.** Calcium Signaling: A Historical Account, Recent Developments and Future Perspectives / M. Brini, E. Carafoli // Cell. Mol. Life. Sci. – 2000. – № 57. – P. 354–370.
- Frankenhaeuser B.** The Action of Calcium on the Electrical Properties of Squid Axon / B. Frankenhaeuser, A. L. Hodgkin // J. Physiol. – 1957. – V. 137. – P. 218–244.
- Kostyuk P. G.** Intracellular Perfusion of Nerve Cells and Its Effects on Membrane Currents / P. G. Kostyuk // Physiol. Rev. - 1984. - V. 64. - № 2. - P. 435-454.
- Rizzuto R.** Microdomains of Intracellular Ca^{2+} : Molecular Determinants and Functional Consequences / R. Rizzuto, T. Pozzan // Physiol. Rev. – 2006. – V. 86. – P. 369–408.
- Rusakov D. A.** Ca^{2+} -dependent Mechanisms of Presynaptic Control at Central Synapses // The Neuroscientist. – 2006. – V. 12. - № 4. – P. 317–326.
- Verkhatsky A.** Physiology and Pathophysiology of the Calcium Store in the Endoplasmic Reticulum of Neurons / A. Verkhatsky // Physiol. Rev. – 2005. – V. 85. – P. 201–279.

АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ОСНОВНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ НА ФОНЕ ЛЕЧЕНИЯ МЕТОДОМ КОМПЬЮТЕРНОЙ ЭЛЕКТРОАКУПUNKТУРЫ

Галушина И. А., Песков А. Б.

Институт медицины, экологии и физической культуры
ГОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»

Бронхиальную астму (БА) в настоящее время можно отнести к одному из самых распространенных заболеваний – в мире живет около 300 миллионов человек страдающих этим недугом [GINA 2006: 1]. При этом продолжается неуклонный рост и утяжеление течения БА [Чучалин А.Г. 2005: 2]. Современная фармакотерапия не во всех случаях обладает достаточной эффективностью, у многих противоастматических препаратов существуют побочные эффекты, которые могут привести к тяжелым осложнениям. В связи с этим, возникает необходимость внедрения в практику эффективных немедикаментозных способов лечения, одним из которых является акупунктура и ее модификации [Zang J. 1990: 4].

Компьютерная электроакупунктура (КЭАП) – это метод акупунктуры, подразумевающий применение акупунктурных игл, через которые в ходе лечения пропускают слабый электрический ток. Характеристики тока изменяют, применяя компьютерную технологию, а пациент является активным участником лечения, непрерывно управляющим величиной напряжения стимуляции с помощью пульта.

Целью настоящего исследования явилось изучение динамики основных клинических симптомов на фоне включения КЭАП в комплексную терапию больных БА и выявление факторов влияющих на эффективность метода.

Материалы и методы исследования. Исследование проведено на базе пульмонологического отделения Ульяновской областной клинической больницы и городской поликлиники № 5 г. Ульяновска. В исследование было включено 80 пациентов с диагнозом БА, верифицированном согласно критериям “Национального консенсуса по бронхиальной астме”.