

## ГЛИО-НЕЙРОНАЛЬНЫЕ ОТНОШЕНИЯ В СЕНСОМОТОРНОЙ КОРЕ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ С РАЗНЫМИ УСЛОВИЯМИ ОБИТАНИЯ (МОРСКИХ СВИНОК И СУСЛИКОВ) И М-ХОЛИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕАКЦИЯ МОЗГА

© 2018 г. Н.М. Захарова, Д.Н. Воронков\*, Р.М. Худоерков\*,  
Н.В. Пасикова\*\*, Ю.С. Медникова\*\*

Институт биофизики клетки РАН, 142290, Пушкино Московской области, ул. Институтская, 3

\*Научный центр неврологии, 125367, Москва, Волоколамское шоссе, 80

\*\*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН, 117485, Москва, ул. Бутлерова, 5а

E-mail: zubkov@mi.ras.ru

Поступила в редакцию 15.03.17 г.

Проведен анализ глио-нейрональных отношений в сенсомоторной коре морских свинок и зимоспящих сусликов (*Spermophilus undulatus*) в активный летний период. Глиальные клетки в максимальной пропорции сосредоточены на небольшом (15–25 мкм) расстоянии от нейронов (38% у морских свинок и 22,4% – у сусликов). Близкое расположение глии, по-видимому, необходимо прежде всего для нервных клеток, не имеющих спонтанной активности (37,2% у морских свинок и 23% – у сусликов), поскольку эти нейроны при своем функционировании требуют наибольших энергетических затрат и в наибольшей степени подвержены нарушению ионного гомеостаза. Сетевая организация глии и ее тесная связь с капиллярами мозга обеспечивают как дополнительное энергоснабжение нейронов, так и стабилизацию ионного состава экстраклеточной среды. Глиальные клетки в коре сусликов имеют в три раза большую плотность, чем в коре морских свинок. Это является основным фактором протекции для выживания нервной системы при длительном охлаждении в период зимней спячки, когда за счет температурного ограничения скорости М-холинергической реакции резко возрастает выход ионов  $K^+$  из нервных клеток.

*Ключевые слова:* морские свинки, суслики, сенсомоторная кора, глиа, нейроны, ацетилхолин.

Астроциты и олигодендроциты в противоположность ранее существовавшим представлениям об их вспомогательной функции и пассивной роли в энергетическом обмене нейронов в настоящее время рассматриваются как активные участники формирования приспособительного механизма мозга и создания условий, позволяющих эту функцию осуществлять [1,2].

Приспособительный механизм мозга непосредственно связан с М-холинергической реакцией, которая участвует как в поддержании сознания [3,4], так и в формировании неспецифических компонентов ответов на условный и безусловный стимулы, когда раздражитель вызывает реакцию в виде активного восприятия или действия [5,6]. Назначение М-холинергической реакции состоит в повышении уровня спонтанной активности нейронов [7] за счет блокирования  $K^+$  проницаемости клеточных мембран [8]. Эта реакция, осуществляемая при постоянной энергетической поддержке [9], достигает у теплокровных особенно высокого развития [10], в связи с чем энергетические по-

требности мозга теплокровных в 5 раз превышают соответствующий показатель низших позвоночных [11]. Почти во столько же раз возрастает глио-нейрональный индекс, т.е. среднее число глиальных клеток, приходящихся на один нейрон (у лягушек – 0,3; у человека – 1,4) [2]. Есть основание полагать, что многочисленные функции глии (стабилизация ионного и медиаторного гомеостаза [12–15], участие в регулировании сосудистого кровотока [1,2,13] и синаптогенеза [2,16], осуществление гликолитического преобразования глюкозы [17–19]) прямо или косвенно связаны с приспособительным механизмом мозга, который протекает при участии М-холинергического процесса.

В связи с этим мы провели сравнительный морфометрический анализ глио-нейрональных отношений в слое V сенсомоторной коры морских свинок и зимоспящих длиннохвостых сусликов (*Spermophilus undulatus*) параллельно с анализом электрофизиологических показателей нейронов, в том числе их реактивности к ионофоретическому подведению ацетилхолина. Вы-

бор экспериментальных животных был связан с тем обстоятельством, что суслики, в отличие от морских свинок, в период зимней спячки имеют очень низкую (3–4°C) температуру тела, что требует особых приспособительных усилий для сохранения жизнедеятельности их мозга.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сравнительное исследование нейронов слоя V сенсомоторной коры морских свинок и сусликов состояло из двух разделов – морфологического и электрофизиологического.

Морфологическая часть работы выполнена на пяти морских свинках и трех активных летних сусликах. Животных наркотизировали хлоралгидратом (400 мг/кг, внутривенно), декапитировали и извлекали головной мозг. Образцы мозга фиксировали в 4% формалине, приготовленном на фосфатном солевом буфере. Мозг замораживали в парах жидкого азота и изготавливали на криостате Zeiss Микром НМ-560 (Zeiss, Германия) серийные фронтальные срезы толщиной 18 мкм. Брали каждый десятый срез из области сенсомоторной коры. Срезы окрашивали толуидиновым синим.

Астроциты выявляли на срезах иммуногистохимическим авидин-пероксидазным методом по локализации кислого глиофибрилярного белка (GFAP). Использовали поликлональные кроличьи антитела и систему детекции EXTRA-3 KIT (Sigma, США), следуя протоколам производителя. В качестве хромогена применяли 3,3-диаминобензидин с усилением хлоридом никеля (набор SigmaFast, Sigma, США).

Морфометрический анализ препаратов, окрашенных по методу Ниссля, выполняли на микроскопе Leica DMLB (Leica Microsystems Wetzlar GmbH, Германия), оснащенном камерой Leica DC300 и системой анализа изображений Leica Qwin. Исследовали слой V сенсомоторной коры. При увеличении объектива 40 $\times$ , используя графический планшет Wacom, на изображении вручную выделяли все нейроны центрального сечения и глиальные клетки в поле зрения (22000 мкм<sup>2</sup>). Оценивали плотность распределения нейронов и нейроглии, определяли число и размеры нейронов, имеющих сателлитную глию. К сателлитной (прилежащей к нейронам) глию относили олигодендроциты и астроциты, располагавшиеся от границы тела нейрона на расстоянии не более чем полтора диаметра ядра глиальной клетки. Для подсчета плотности распределения нейронов, нейроглии и глио-нейронального отношения были взяты 330 полей зрения у морских свинок и 300 – у сусликов. Глио-нейрональный индекс подсчитывали для каждого поля зрения и определяли его среднее значение. Размеры нейронов опре-

деляли по площади их профильного поля, вычисляя их эквивалентный диаметр, а расстояние от нейронов до ядер глиальных клеток оценивали, используя функцию вычисления евклидова расстояния. Использованные методы морфометрии подробнее были описаны нами ранее [20,21]. Объем выборки для оценки размеров нейронов и расстояния до глиальных клеток для морских свинок составил 1118 нейронов и 1225 глиальных клеток, а у сусликов – 1007 нейронов и 2145 глиальных клеток.

Электрофизиологические опыты выполнены на переживающих срезах мозга 25 морских свинок и 15 летних сусликов. После быстрой декапитации животных и вскрытия черепа выделяли продольный блок сенсомоторной коры, из которого с помощью вибротома VSL (World Precision Instruments, США) приготавливали срезы толщиной 500 мкм и помещали их в экспериментальную и резервную ячейки инкубационной камеры. Инкубационный раствор, насыщенный карбогеном (95% O<sub>2</sub> + 5% CO<sub>2</sub>), состоял из следующих компонентов (мМ): 124 – NaCl; 5 – KCl; 1,24 – KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 1,3 – MgSO<sub>4</sub>; 2,4 – CaCl<sub>2</sub>; 26 – NaHCO<sub>3</sub> и 10 – глюкозы (рН среды 7,4). Скорость протока составляла 1,5 – 3,0 мл/мин. Во время экспериментов температуру инкубирования поддерживали на уровне 32–34°C. Экстраклеточную регистрацию импульсной активности и ионофоретическое подведение ацетилхолина к регистрируемым нейронам осуществляли с помощью трехканальных стеклянных микроэлектродов. Третий канал электрода заполняли раствором глутамата, ионофоретическое подведение которого к нервной клетке всегда вызывало высокочастотный импульсный ответ, что служило индикатором нахождения микроэлектрода возле нейрона, если он был лишен спонтанной активности. Общий диаметр микроэлектродов составлял 7,4–8,0 мкм. При проведении экспериментов электрод помещали на уровне слоя V коры (1,5–1,6 мм от пиальной поверхности). После обнаружения импульсной активности нейрона производили локальную ионофоретическую аппликацию ацетилхолина из 2М раствора ацетилхолинхлорида током 60–80 нА (положительный полюс внутри электрода) длительностью 4,5 с. Сигнал с регистрирующего канала микроэлектрода подавали на вход усилителя, а после оцифровки с частотой 50 кГц – в компьютер Intel(R) Core(TM) 2 Duo CPU для последующей обработки. Вычисляли частоту спонтанной активности, как среднее из 20-секундного интервала до начала микроаппликации ацетилхолина. Для определения величины приращения импульсной активности нейронов, вызванного ацетилхолином, вычисляли максимальную текущую среднюю по трем последовательным односекундным интервалам в период после начала фореза ацетилхолина и соотносили ее с аналогичной величиной, вы-

**Таблица 1.** Показатели плотности распределения нейронов и нейроглии в слое V сенсомоторной коры сусликов и морских свинок

	Морские свинки	Суслики
Число нейронов в поле зрения	15,7 ± 0,11	15,3 ± 0,6
Число глии в поле зрения	11,87 ± 0,11	38,3 ± 0,8

Примечание. Данные приведены в виде  $M \pm SE$  ( $M$  – среднее,  $SE$  – стандартная ошибка среднего).

численной в фоне. Необходимый статистический анализ проводили с помощью методов статистики пакета программ «Matlab».

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Морфологический анализ нейронного и глиального состава в коре морских свинок и сусликов.** Морфологические данные свидетельствуют, что слой V сенсомоторной коры морских свинок и сусликов укомплектован нейронами, малоразличимыми по линейным характеристикам и плотности расположения. Минимальные (8–10 мкм) и максимальные (24–28 мкм) значения эквивалентных диаметров были одинаковы у нейронов обоих видов; практически равной была и плотность нейронов: число нейронов в поле зрения составило  $15,7 \pm 0,1$  у морских свинок и  $15,3 \pm 0,6$  у сусликов (табл. 1; рис. 1а,б). Вместе с тем представленность нейронов разного размера была иной: у сусликов относительно больше нейронов мелкого и крупного диаметров и относительно меньше средних по размеру клеточных тел. Различия по частоте встречаемости нейронов разного диаметра были статистически значимы ( $\chi^2 = 2171,6$ ;  $\alpha < 0,001\%$ ).

В отличие от постоянства нейронального состава, количество глии в коре у сусликов значительно больше, чем у морских свинок. Подсчет общего числа олигодендроцитов и астроцитов на препаратах, окрашенных по Нисслю, свидетельствует, что в слое V сенсомоторной коры у сусликов располагается  $38,3 \pm 0,8$  глиальных ядер в поле зрения, тогда как у морских свинок – всего  $11,87 \pm 0,11$  (табл. 1). Окраска на специфический кислый глиофибриллярный белок, выявляющая астроцитарную глию, убедительно демонстрирует редко расположенные глиальные элементы в коре морских свинок (рис. 1в) и густую глиальную сеть на препарате коры мозга суслика (рис. 1г).

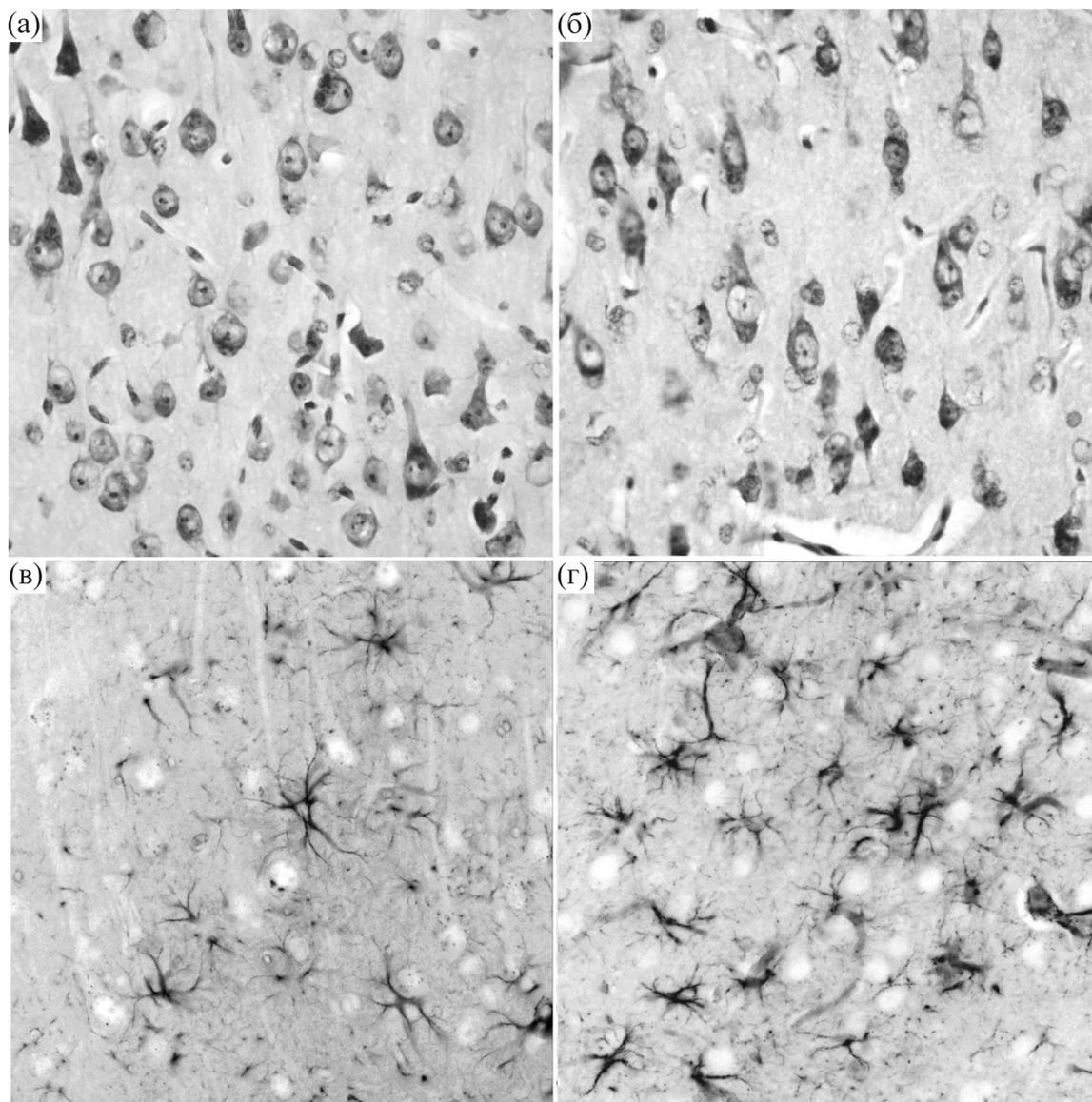
Окраска на глиофибриллярный белок позволяет также составить представление о расположении глии по отношению к другим элементам нервной ткани. На рис. 2 на примере слоя V сенсомоторной коры суслика можно видеть, что астроциты устанавливают тесный контакт с капиллярами мозга (рис. 2а) и, рас-

пределяясь между нервными клетками, могут локализоваться в непосредственной близости от нейронов или формировать с ними отдаленные связи (рис. 2б).

При подсчете перинеурональной глии удалось обнаружить, что частота встречаемости глиальных сателлитов в сенсомоторной коре сусликов выше, чем у морских свинок. Соотношение нейронов, имеющих и не имеющих глиальные сателлиты, показано на рис. 3. При группировании нейронов по диаметру клеточных тел можно заметить, что в каждой группе фиксированного клеточного диаметра перинеурональная глиа сопровождает почти строго определенную долю нейронов в сенсомоторной коре как у морских свинок, так и у сусликов (рис. 3а,б). Их доля по отношению к клеткам, не имеющим сателлитную глию, составила в среднем у морских свинок 0,5, а у сусликов – 0,9 (критерий Уилкоксона для разностей пар,  $\alpha = 1\%$ ). Это означает, что у морских свинок на один нейрон, сопровождаемый сателлитной глией, приходится в среднем два нейрона, лишенных глиальных сателлитов, а у сусликов это соотношение почти равное (1 и 1,1 нейрона соответственно).

**Функциональные свойства нейронов в коре морских свинок и сусликов.** Эксперименты были проведены на 145 нейронах морских свинок и 100 нейронах сусликов в слое V сенсомоторной коры. Распределение нейронов по уровню спонтанной активности у животных обоих видов показано на рис. 4а,б. Обращает на себя внимание преобладание клеток, не имевших спонтанной активности, как у морских свинок (37,2%), так и у сусликов (23,0%). Вместе с тем доля нейронов с активностью выше 12 имп/с составила всего 6,2% у морских свинок и 29% – у сусликов. Таким образом, распределение по уровню спонтанной активности у сусликов смещено в сторону более высокочастотных нейронов ( $\chi^2 = 196,4$ ;  $\alpha < 0,001\%$ ).

Ранее было обнаружено, что от уровня спонтанной активности существенным образом зависит ее повышение под воздействием ацетилхолина [7]. Чем ниже уровень спонтанной активности, тем более значительного повышения импульсации можно ожидать при действии ацетилхолина [7]. Выявленная закономерность на

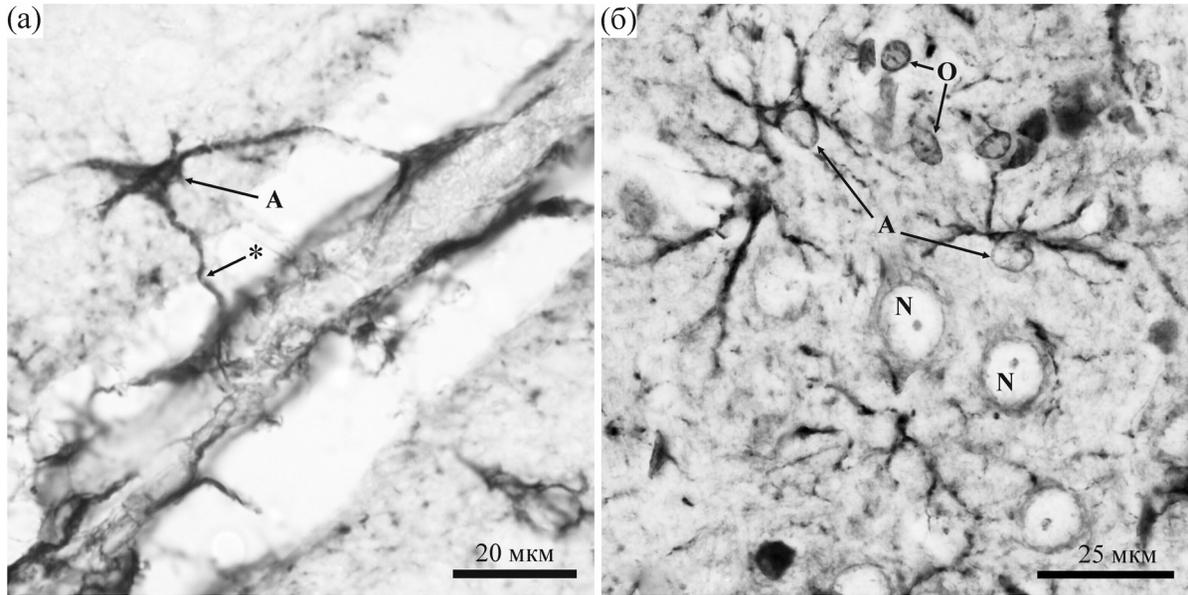


**Рис. 1.** Глио-нейрональная организация слоя V сенсомоторной коры мозга морских свинок (а, в) и сусликов (б, г): (а) и (б) – окрашивание методом Ниссля; (в) и (г) – иммуногистохимическое выявление астроглии, содержащей кислый глиофибрилярный белок.

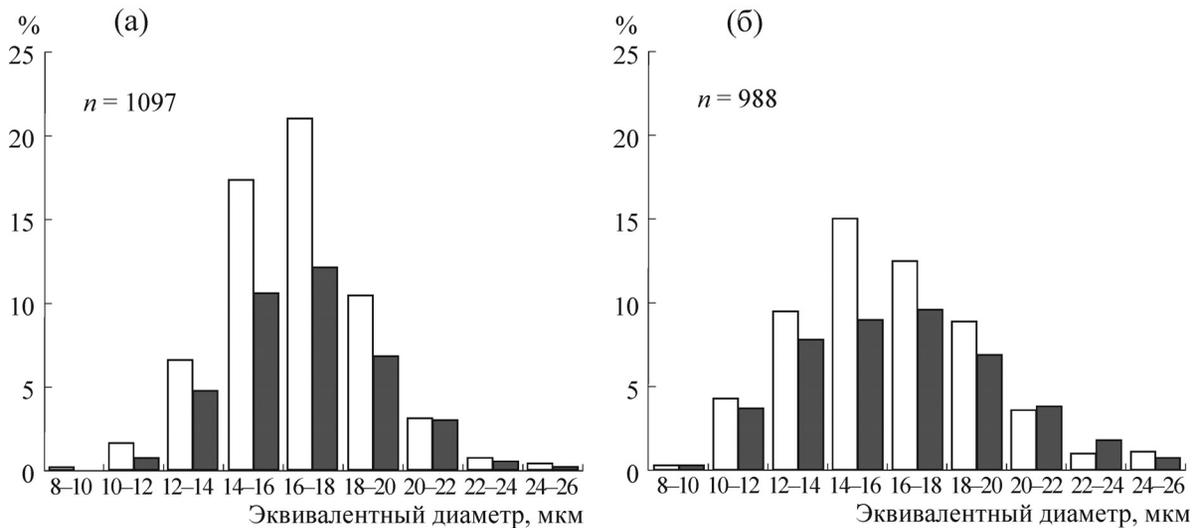
отдельных примерах продемонстрирована для нейронов морских свинок и сусликов (рис. 5). На рис. 5а представлены два нейрона с регулярной спонтанной активностью выше 4 имп/с. Активационный ответ, возникающий под влиянием ацетилхолина в основном уже после окончания его действия, характеризовался у нейрона морской свинки и нейрона суслика приращением импульсации к исходному уровню активности всего в 5 имп/с. При этом у нейронов с низким уровнем спонтанной частоты или у молчащих нейронов (рис. 5б) в ответ на ионофоретическое подведение ацетилхолина развиваются реакции с приращением импульсной ак-

тивности в 36 имп/с (морская свинка) и 18,5 имп/с (суслик).

Следует заметить, что даже в группе спонтанно неактивных нейронов, среди которых под влиянием ацетилхолина можно получить максимальный ответ (рис. 5б, морская свинка), встречаются самые разнообразные реакции, вплоть до их полного отсутствия [7]. В связи с очевидной неоднородностью нервных клеток, ответственной за разнообразие возникающих ответов, для характеристики холинергического возбуждения мы ограничились анализом максимального приращения импульсной активности для нейронов разных частотных групп, тес-



**Рис. 2.** Пространственные взаимоотношения нейроглии и клеточных элементов нервной ткани. (а) – Концевые ножки астроцита, оплетающие сосуд. Выявление кислого глиофибрилярного белка. (б) – Сателлитные глиальные клетки в слое V сенсорной коры мозга суслика. Окраска на кислый глиофибрилярный белок с подкрашиванием крезидовым фиолетовым. Обозначения: А – астроцит, N – нейроны, О – ядра олигодендроглии, \* – концевые ножки астроцита.

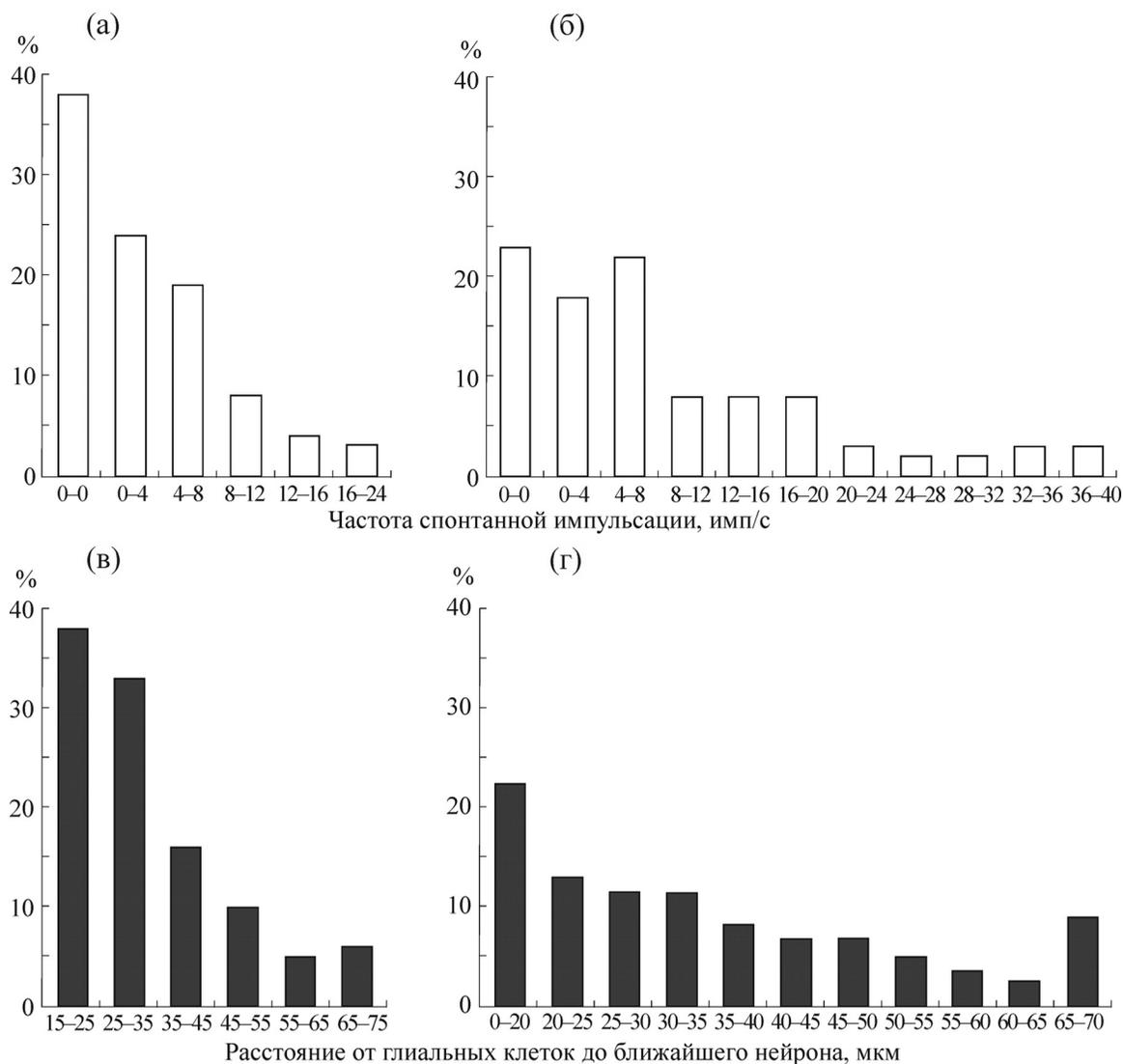


**Рис. 3.** Соотношение числа нейронов, имеющих и не имеющих сателлитную глию, в зависимости от размера клеточных тел в сенсорной коре морских свинок (а) и сусликов (б). По горизонтали – величина эквивалентного диаметра; по вертикали – процент нейронов соответствующего размера. Доля нейронов, не имеющих глиальных сателлитов, обозначена светлыми столбиками; доля нейронов, имеющих сателлитную глию – темными столбиками. Слева над каждым распределением указано общее число нейронов.

тированных ацетилхолином в коре морских свинок и сусликов (табл. 2). Данные, приведенные в таблице, во-первых, подтверждают ранее обнаруженную обратную связь между приращением активности в ответ на ацетилхолин и исходным уровнем спонтанной импульсации нейронов [7] и, во-вторых, свидетельствуют о

меньшей выраженности реакции на ацетилхолин в нейронах любого частотного диапазона у сусликов по сравнению с реакциями нейронов у морских свинок.

Видовая специфичность, связанная с характером распределения нейронов морских свинок и сусликов по уровню спонтанной активности

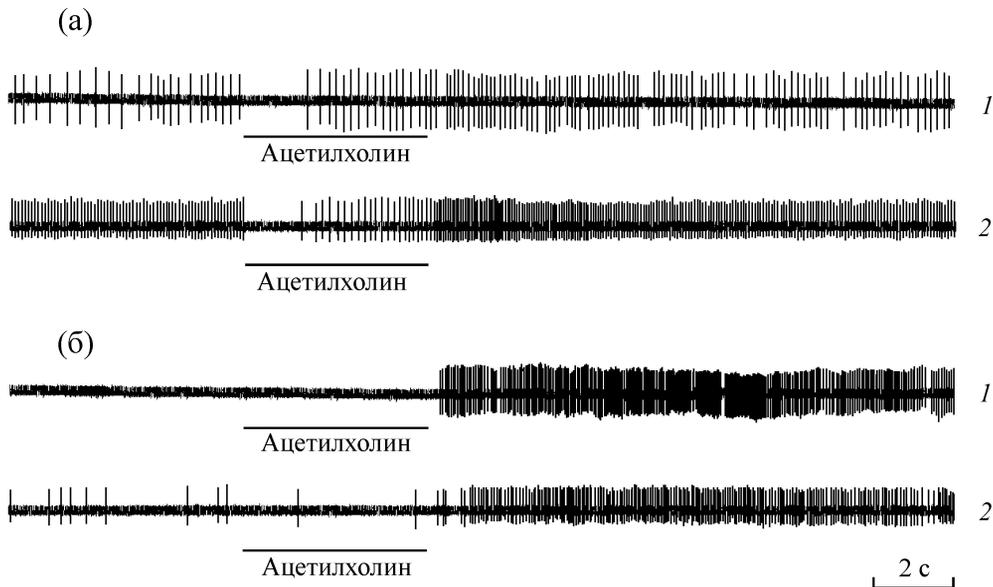


**Рис. 4.** Глио-нейрональные соотношения в слое V сенсомоторной коры морских свинок и сусликов: (а) и (б) – распределение нейронов коры по уровню спонтанной активности (в %) соответственно у морских свинок (общее число нейронов = 145) и сусликов (общее число нейронов = 100), по горизонтальной оси представлена частота спонтанной импульсации; (в) и (г) – распределение глии в слое V сенсомоторной коры по расстоянию до нейронов (в %) соответственно у морских свинок (общее число глиальных клеток = 1225) и сусликов (общее число глиальных клеток = 2145); по горизонтали указано расстояние от глиальных клеток до ближайшего нейрона.

(рис. 4а,б) повторяется спецификой распределений глиальных элементов, расположенных на разном расстоянии от нервных клеток (рис. 4в,г). У обоих видов доле числа нейронов со все возрастающим уровнем спонтанной активности соответствует все более отдаленное глио-нейрональное расположение. С другой стороны, числу спонтанно неактивных нейронов (37,2% у морских свинок и 23,0% у сусликов) соответствует максимальная доля глии (38,0 и 22,4% для морских свинок и сусликов соответственно), расположенной в непосредственной близости (15–25 мкм) от нервных клеток (рис. 4в,г).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

**Глио-нейрональные отношения и адаптивное регулирование спонтанной активности.** Формирование приспособительных реакций связано с повышением уровня спонтанной активности нейронов, в частности для развертывания неспецифического компонента ответа на сенсорную стимуляцию [5,6]. Регулирование спонтанной активности находится под контролем М-холинергической реакции мозга [7] (рис. 5), в связи с чем выброс ацетилхолина из холинергических депо сопровождается любой приспособительный ответ [22,23]. Подъем спонтанной ак-



**Рис. 5.** Примеры импульсных реакций нейронов на ионофоретическое подведение ацетилхолина в V слое сенсомоторной коры морских свинок и сусликов. (а) – Импульсные реакции на подведение ацетилхолина у нейронов коры, имевших спонтанную активность выше 4 имп/с: 4,2 имп/с у нейрона морской свинки (1) и 12 имп/с у нейрона суслика (2). (б) – Импульсные реакции на подведение ацетилхолина у нейронов с низким уровнем спонтанной активности: 0 имп/с у нейрона морской свинки (1) и 1,5 имп/с у нейрона суслика (2). Время ионофореза указано чертой под каждой записью. Сила фореза ацетилхолина в каждом случае 70 нА (положительный полюс внутри электрода).

тивности является следствием трансформации потока миниатюрных ВПСП, формируемых в дендритах, в спайковую последовательность [7]. Происходит это за счет искажения амплитуды ВПСП при их прохождении по длинному дендритному кабелю и холинергической блокады  $K^+$ -проницаемости [8], препятствующей ослаблению ВПСП в дендритах [7]. М-холинергическая реакция идет против градиента концентрации и поэтому сопряжена с большими энергозатратами [9]. Особенно велики энергетические потребности холинергической реакции у теплокровных, поскольку скорость этого процесса резко возрастает при  $t = 36^\circ\text{C}$  [10], и вместе с ней растут энергетические потребности мозга [11].

Несмотря на большую зависимость от энергоснабжения, нейроны не имеют непосредственных контактов с кровеносными сосудами. Доступ к энергетическому субстрату осуществляется либо в процессе его диффузии, либо с помощью глии (рис. 2а). Она же перерабатывает глюкозу на первом этапе энергетического ме-

таболизма – на стадии гликолиза [17–19], конечным продуктом которого являются 2 молекулы АТФ (на одну молекулу глюкозы) и лактат, выделяемый из глии и ее отростков к близлежащим и отдаленным нейронам. Разделение двух стадий энергетического метаболизма между глией и нейронами приводит к оптимизации энергетического снабжения – постоянный пул лактата может быть в любой момент использован нейронами для окисления в цикле Кребса и производства 38 молекул АТФ, необходимых при формировании приспособительного роста спонтанной импульсации. В состоянии покоя, когда лактат не используется нейронами, скорость гликолиза замедляется и поступающая к глиальным клеткам глюкоза полимеризуется и накапливается в виде гликогена [17,19]. Таким образом, достигается постоянная готовность энергетического снабжения мозга к надежному сопровождению даже очень быстрых, мощных и неожиданных приспособительных реакций. Поэтому с усложнением при-

**Таблица 2.** Максимальные импульсные реакции на ацетилхолин среди нейронов разных частотных групп в коре морских свинок и сусликов

Частотные диапазоны (имп/с)	Максимальные реакции на ацетилхолин (имп/с)					
	0–0	0–4	4–8	8–12	12–16	16–24
Морские свинки ( $n = 111$ )	36	23,2	22	18,2	17,2	14,4
Суслики ( $n = 27$ )	19,6	18,8	9,2	6,4	5,6	–

способительной функции мозга в процессе эволюции растет роль глии [2].

**Глио-нейрональные отношения и функциональная неоднородность нейронов коры морских свинок и сусликов.** Несмотря на сетевую организацию [1], глиальные элементы размещены неравномерно между нервными клетками (рис. 2б). Например, глиальные сателлиты, как было показано ранее [20], располагаются не возле каждого нейрона, а в определенной пропорции, одинаковой для нейронов каждого линейного размера (рис. 3). Это означает, что наличие глиальных сателлитов кодирует в каждом нейроне функциональный признак, с равной частотой представленный среди нейронов любого диаметра. Участие глии в энергетическом метаболизме позволяет предположить, что разные нейроны коры для своего функционирования требуют разного энергетического снабжения. Нейроны, способные создать значительное приращение спонтанной активности при стандартном холинергическом воздействии (рис. 5б), должны нуждаться в сателлитной глии, поскольку М-холинергическая реакция, регулирующая уровень активности, потребует тем большего энергетического обеспечения, чем выше плотность  $K^+$ -каналов на мембране нейронов. Различие по этому параметру появляется у корковых нейронов млекопитающих через неделю после рождения, когда начинается массовое встраивание  $K^+$ -каналов на нейрональных мембранах [24]. Этот процесс формирует специфику функциональных свойств нейронов тепловых, в частности преобладание среди них нервных клеток с низким уровнем спонтанной активности (рис. 4а,б). В сенсомоторной коре сусликов низкоактивных нейронов меньше, что дает основание полагать, что мембраны их нейронов имеют меньшую плотность  $K^+$ -каналов. О том же свидетельствует меньшая величина приращения импульсации под влиянием ацетилхолина по сравнению с нейронами морских свинок (табл. 2).

Распределения нейронов сенсомоторной коры морских свинок и сусликов по уровню спонтанной активности имеют такую же форму, как и распределения глиальных элементов по их удаленности от нервных клеток (рис. 4). По-видимому, чем выше уровень спонтанной активности нейронов, тем меньше роль глии в обеспечении регулирования их активности.

**Глио-нейрональные отношения в коре морских свинок и сусликов в связи с разными условиями их обитания.** Высокая плотность  $K^+$ -каналов на нейрональных мембранах тепловых [24] наряду с преимуществами, связанными со значительным диапазоном регулирования импульсной активности [7], порождает и большой недостаток – высокую «текучесть» [25]

мембран при охлаждении. М-холинергическая реакция, ограничивающая  $K^+$ -проницаемость, при снижении температуры дважды теряет скорость – при 36 и 28°C [10], вследствие чего через многочисленные  $K^+$ -каналы ионы  $K^+$  устремляются из нервных клеток по градиенту концентрации. Создается разбаланс ионов по обе стороны мембраны, падает мембранный потенциал и амплитуда спайков [14]. Именно ниже 28°C падение амплитуды спайков у нейронов сенсомоторной коры морских свинок оказывается наиболее стремительным [26], что свидетельствует о значительном нарастании концентрации  $K^+$  во внеклеточном пространстве [14]. При 18°C крысы погибают в результате паралича дыхательного центра [11], тогда как суслики в период зимней спячки выдерживают охлаждение до примерно нулевых значений.

Одним из способов предотвратить или снизить ионный разбаланс у нейронов сусликов в период длительного охлаждения может быть снижение плотности  $K^+$ -каналов на нейрональных мембранах, что можно обнаружить по смещению распределения нейронов в более высокочастотную область в соответствии с их спонтанной импульсацией (рис. 4а,б). Но для тепловых сусликов небольшое снижение проницаемости мембран для ионов  $K^+$  не может решить проблему выживания в условиях холода. Эту проблему, по-видимому, решают глиальные клетки, которых в сенсомоторной коре сусликов в три раза больше, чем у морских свинок (рис. 1в,г, табл. 1), и в 1,5–2,0 раза больше, чем в коре мозга человека [2,27]. В экспериментах *in vivo* было установлено, что значительное (более чем четырехкратное) увеличение содержания экстраклеточного  $K^+$  развивается в гиппокампе крыс после эпизодов распространяющейся депрессии, если глиальные клетки отравлены специфическим для них ядом. При сохранной функции глии то же воздействие, приводящее к искусственному росту экстраклеточного  $K^+$ , вызывает лишь незначительное и непродолжительное его увеличение [14]. Авторы считают, что экстраклеточный  $K^+$  возвращается в нейроны с помощью  $Na^+, K^+$ -АТФазы только при нормальном функционировании. В случае значительного выделения  $K^+$  (при гипоксии [14] или при гибернации), глия выступает регулятором экстраклеточного  $K^+$  либо за счет его непосредственного захвата, либо в результате внутритканевого перераспределения, либо за счет перетекания в сосудистое русло [14]. Поэтому высокое содержание глии в коре мозга сусликов следует считать основным протекторным фактором в связи с условиями их обитания.

Исследование поддержано Российской Академией наук.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. B. A. Barres, *Neuron* **60**, 430 (2008).
2. M. Nedergaard and B. Ransom, *Trends in Neurosci.* **26**, 523 (2003).
3. H. W. Magoun, *The Waking Brain* (C. C. Thomas publisher, Springfield, 1958).
4. M. Sarter and J. P. Bruno, *Neurosci.* **95** (4), 933 (2000).
5. Ю. С. Медникова, С. Н. Кожечкин, Ф. В. Копытова и др., *Патол. физиол. и эксперим. терапия* **3**, 33 (2012).
6. E. V. Evarts, *J. Neurophysiol.* **29**, 1011 (1966).
7. Ю. С. Медникова, Ф. В. Копытова и М. Н. Жадин, *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова* **95** (8), 820 (2009).
8. D. A. McCormick and D. A. Prince, *J. Physiol.* **375**, 169 (1986).
9. J. M. Godfraind, H. Kawamura, K. Krnjević, et al., *J. Physiol.* **215**, 199 (1971).
10. Ю. С. Медникова и Н. В. Пасикова, *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова* **90** (2), 193 (2004).
11. К. П. Иванов, *Основы энергетики организма. Т.4. Энергоресурсы организма и физиология выживания.* (Наука, СПб., 2004).
12. В. Н. Мац, *Нейро-глиальные соотношения в неокортексе при обучении.* (Наука, М., 1994).
13. P. G. Haydon and G. Carmignoto, *Physiol. Rev.* **86**, 1009 (2006).
14. C. Largo, P. Cuevas, G. G. Somjen, et al., *J. Neurosci.* **16**, 1219 (1996).
15. N. Rouach, C. Giaume, *Prog. Brain Res.* **132**, 203 (2001).
16. F. M. Pfrieder and B. A. Barres, *Science* **277**, 1684 (1997).
17. L. H. Bergersen, *J. Neurosci.* **145**, 11(2007).
18. L. Pellerin and P. J. Magistretti, *Science* **305**, 50 (2004).
19. M. Tsacopoulos and P. J. Magistretti, *J. Neurosci.* **16**, 877 (1996).
20. Н. В. Пасикова, Ю. С. Медникова, Д. Н. Воронков и др., *Морфология* **141** (1), 33(2012).
21. Р. М. Худоерков и Д. Н. Воронков, в кн. *Неврология XXI века: диагностические, лечебные и исследовательские технологии. Руководство для врачей*, под ред. М. А. Пирадова, С. Н. Иллариошкина и М. М. Танащян). (АТМО, М., 2015).
22. E. Acquas, C. Wilson, and H. C. Fibiger, *J. Neurosci.* **16**, 3089 (1996).
23. F. Marrosu, Ch. Portas, M. S. Mascia, et al., *Brain Res.* **671**, 329 (1995).
24. J. Kang, J. R. Huguenard, and D. A. Price, *J. Neurophysiol.* **76**, 188 (1996).
25. P. W. Hochachka, *Science* **231**, 234 (1986).
26. Ю. С. Медникова, Н. В. Пасикова, Н. М. Захарова и др., *Росс. физиол. журн. им. И. М. Сеченова* **100** (9), 1008 (2014).
27. С. М. Блинков, И. И. Глезер, *Мозг человека в цифрах и таблицах* (Медицина, Л., 1964).

## Glia-Neuron Interactions in Sensory-Motor Cortex of Warm-Blooded Animals (Guinea Pigs and Ground Squirrels) under Different Conditions and M-Cholinergic Reaction in the Brain

**N.M. Zakharova\*, D.N. Voronkov\*\*, R.M. Khudoerkov\*\*,  
N.V. Pasikova\*\*\*, and Yu. S. Mednikova\*\*\***

*\*Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
ul. Institutskaja 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

*\*\*Research Center of Neurology, Volokolamskoye shosse 80, Moscow, 125367 Russia*

*\*\*\*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, Russian Academy of Sciences,  
ul. Butlerova 5a, Moscow, 117485 Russia*

The glia-neuron interactions were analysed in sensory-motor cortex of guinea pigs and ground squirrels (*Spermophilus undulatus*) during the active summer months. The glial cells were more concentrated in close (15–25  $\mu\text{m}$ ) proximity to neurons (38% in guinea pigs and 22.4% in ground squirrels). A more concentrated distribution of glial cells might be much needed by spontaneous inactive nerve cells (37.2% in guinea pigs and 23% in ground squirrels) since these neurons are associated with the highest energy demand during their functioning and to a greater extent are vulnerable to the disturbances in ionic homeostasis. Glia network activity and close contact of glia cells to brain capillaries provide additional energy for the neurons and stabilize ion balance in extracellular medium. Glial density in sensory-motor cortex of ground squirrels is threefold higher than that in the cortex of guinea pigs. The high content of glial cells in ground squirrel cortex is one of the protective factors that could help animals survive long-lasting sleep in torpor, in particular, because of high sensitivity of the M-cholinergic reaction to temperature, diffusion of  $\text{K}^+$  ions out of the nerve cells sharply increases.

*Keywords: guinea pigs, ground squirrels, sensory-motor cortex, glia, neurons, acetylcholine*