

Л.Н.Подладчикова.

ЧТО ДАЕТ ПОИСК КЛЕТОК ПУРКИНЬЕ-БЛИЗНЕЦОВ В КОРЕ МОЗЖЕЧКА: РЕЗУЛЬТАТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ.

Доклад на заседании Ученого Совета НИИ нейрокибернетики РГУ, 22 мая 2003 г.

К постановке задачи и проведению исследований, результаты которых представлены в этом сообщении, в разное время были причастны А. Б. Коган, В.Л.Дунин-Барковский, И.Хандожко, С.Жердева, Е.Бухарин, М.Репина, А.Сухарев, С.Маркин, Г.Бондарь, С.Ивлев, Д.Шапошников, Р.Тикиджи-Хамбурьян. Работа была поддержана РФФИ (гранты №№ 94-04-11126, 97-04-48324, 00-04-49344, 03-04-48369), программой Университеты России (проекты №№ 015.07.01.02, УР 07.01.042) и грантом МНФ и правительства России (№ J4E100). Основные результаты опубликованы в более, чем 40 статьях в российских и международных изданиях.

Почему же поиск и исследование электрической активности пар (групп) клеток Пуркинье (КП) коры мозжечка, имеющих идентичный вход по лианным волокнам (ЛВ), или лианных близнецов, является целью данной работы? Ответ на этот вопрос в самом общем виде - предполагается, что с их помощью может быть решен ряд ключевых проблем кооперативной организации нейронов и получены сведения о феноменах и механизмах интеграции различных входов в коре мозжечка, которые позволят разрешить противоречия в известных фактах и протестировать известные гипотезы о роли ЛВ.

Проблема кооперативной организации нейронов в 60-80 гг. была предметом экстенсивных нейрофизиологических, морфологических и теоретических исследований. После первых работ с множественным отведением нейронной активности - Маункасла в 57 и Хьюбела и Визела в 62, вдохновленных идеями выдающихся морфологов Лоренто де Но и Шолла о колонках — ежегодно выходило сотни, если не тысячи, работ, так или иначе посвященных этой проблеме. В результате практически во всех структурах мозга выявлены локальные функциональные группы по тому или иному показателю. Известно много определений таких групп, наибольшее распространение среди которых получили колонки и нейронные ансамбли. За исследования в этой области получено 2 Нобелевских премии. В значительной мере под эту проблему Александром Борисовичем был организован наш институт. Однако, к концу 90-х гг. не только у нас в институте, но и во всем мире количество работ, посвященных проблеме кооперативной организации нейронов резко уменьшилось, почти на порядок.

Что же отражает столь резкое падение интереса к этой проблеме? То, что она закрыта и получено полное описание элементов кооперативной организации и понимание механизмов их функционирования? Или кризис жанра? Скорее все же последнее, поскольку имевшиеся экспериментальные подходы и концептуальные представления вступили в конфликт с полученными экспериментальными данными о мере сложности и разнообразии нейронных групп. И проблема состоит не только и не столько в отсутствии на тот момент методов, дающих возможность отводить одновременно большее количество нейронов.

Слайд 2. Функциональные группы нейронов с необходимостью должны были пройти ряд последовательных этапов своего исследования. **Первый - идентификация** в эксперименте с помощью четких критериев и описание в деталях. **Второй – исследование** внутренней структуры и **третий – изучение** способа функционирования. Для первого этапа одновременное отведение большого числа нейронов не является строго обязательным. Для двух других – это необходимое, но не достаточное условие. На мой взгляд, исследования функциональных групп нейронов зашли в тупик уже при решении методологических проблем первого этапа. **Известны лишь единицы работ**, где выполнялись несколько условий для реализации целей этого этапа – а именно, детальное сканирование и реконструкция активности нейронов в микроучастке мозга с шагом, сопоставимым с размерами клеток, при активации одних и тех же входов, идентификация групп по свойствам распределения их активности, а не по свойствам стимула. И последнее условие – оценка пространственного перекрытия между группами, формирующимися при различных режимах функционирования. Это – первые работы Юнга, Маункасла и исследования, проведенные у нас в институте. В остальных же случаях, даже при регистрации многих нейронов, акцент делался на сенсорной настройке ответов клеток.

Слайд 3. Более того, мне неизвестны работы, в которых функциональная структура групп нейронов и способ их функционирования, являются предметом направленного экспериментального изучения. При этом практически во всех работах до настоящего времени в явной или неявной форме доминирует представление об усреднении активности нейронов в группах. Это касается и последнего экспериментального всплеска интереса к функциональному группированию нейронов после работ Фримана, Грея и Зингера о синхронизации и осцилляциях активности в колонках.

Слайд 4. На основании накопленных у нас в институте экспериментальных данных НА как первичный элемент кооперативной организации в ЗКМ может быть рассмотрен как относительно дискретная группа клеток, формирующаяся на основе структурной колонки Сентаготаи. Эта локальная

группа состоит из функционально гетерогенных нейронов, имеет фиксированное местоположение и специфическую структуру внутренних связей, к ней приурочены пространственно распределенные входы и выходы, а характер ее активности зависит от условий функционирования.

Слайд 5. В свое время, при рассмотрении текущих результатов и их обобщении при подготовке коллективной монографии, мы обсуждали с А.Б.Коганом возможные подходы к **экспериментальному исследованию способа функционирования НА**. Методические средства, имевшиеся в 90-е гг., как впрочем и сейчас, не позволяли в полном объеме приступить к изучению этой проблемы для столь сложноорганизованного объекта в зрительной коре. Обсуждалось несколько путей преодоления этого ограничения, которые могли быть реализованы на том методическом уровне. В частности, - выбор других, более простых объектов. В качестве такого объекта Александр Борисович, учитывая результаты Фам Хыу Хоана, предложил использовать мозжечок. Реализация этого предложения была начата с 92 г., в ключе решения задачи поиска групп клеток Пуркинье-лианых близнецов.

Слайд 6. Мозжечок – хорошо структурированная часть мозга, является, как известно, высшим центром координации движений и двигательного обучения. Он имеет достаточно сложную морфологическую макроструктуру. Однако на микроуровне кора мозжечка значительно проще, чем шестислойная ЗКМ. Видны три слоя – молекулярный, слой КП и слой зернистых клеток.

Слайд 7. Одна из центральных проблем нейрофизиологии мозжечка касается механизмов интеграции входов ЛВ и ПВ на уровне **клетки Пуркинье** - основном элементе переработки информации в коре мозжечка. Она порождает множество гипотез. Данные многолетней экспериментальной верификации известных предположений, в частности, гипотезы об обучающей роли ЛВ, чрезвычайно разнообразны и нередко вступают в противоречие друг с другом. Общеизвестна также значительная вариабельность параметров активности у одной и той же КП, которая отмечается во всех исследованиях. Однако, работы, посвященные систематическому изучению видов такой динамики, их взаимосвязи и факторов, обуславливающих вариабельность активности, отсутствуют.

Слайд 8. Клетки Пуркинье - это крупные пирамидные нейроны с мощным дендритным деревом, простирающимся в объеме коры в форме узкого параллелепипеда, вытянутого в сагиттальной плоскости. Они образуют характерный, почти регулярный скелетон трехслойной архитектуры коры мозжечка.

Помимо входов от большого числа параллельных волокон (ПВ) на каждую КП через сложный синапс оказывает мощное воздействие единственное афферентное волокно другого типа - ЛВ. Эти два типа входов к КП приводят к разным электрическим проявлениям их активности – простым (ПИ) и сложным импульсам (СИ), соответственно. СИ имеют длительность порядка 10 мс и генерируются со средней частотой 1 раз в секунду. В силу конструкции синапса ЛВ и его расположения на начальных ветвях дендритов даже один импульс, поступивший к нему, вызывает СИ. В свою очередь, генерация ПИ, имеющих типичную форму, длительность около 1 мс и частоту порядка 100 Гц, обусловлена входами ПВ. Такая уникальная возможность избирательного наблюдения за активностью, опосредованной различными входами к одной клетке, равно как и то, что КП являются единственными выходными нейронами из коры мозжечка, чрезвычайно упрощают проведение эксперимента, направленного на исследование способа функционирования локальных групп нейронов. Она не требует, как в ЗКМ, специальных сложных методик идентификации входных и выходных нейронов.

Слайд 9. Очевидно, для адекватного экспериментального тестирования известных гипотез о роли входов ЛВ и их взаимодействия со входами ПВ необходим поиск новых экспериментальных моделей, одной из которых могут быть нейронные ансамбли высокой специфичности, или группы КП, управляемых общей клеткой нижних олив – источником ЛВ. Предполагалось, что такие КП будут вести себя сходно, поскольку они в каждый момент генерации СИ имеют идентичный сильный вход по ЛВ, приводящий к выраженной динамике ПИ. Сопоставление активности таких пар и КП, иннервируемых разными оливарными афферентами, позволит оценить вклад афферентных и клеточных механизмов в формирование взаимодействий между ЛВ и ПВ.

Слайд 10. Сама задача поиска таких ансамблей, критерии их идентификации и стартовые методы ее решения предложил В.Л.Дунин-Барковский (1978-1989). В частности, для увеличения вероятности их обнаружения предложен модифицированный метод поиска ЭЭГ-кванта Гутмана. Другие особенности методики будут рассмотрены несколько позже.

Проблема состояла в том, что до начала наших исследований регистрация активности КП-близнецов была нерешенной экспериментальной задачей. Несмотря на многочисленные косвенные указания о том, что каждая клетка нижних олив управляет работой, в среднем, 10 КП, примеров регистрации лианных близнецов, при наличии ПИ и СИ у каждой из них, не было описано. И это несмотря на большой поток работ с одновременной регистрацией двух и более КП (Sasaki K. et al., 1996; Bell C., Kawasaki T, 1972; Lang et al, 1999; Ito M., 1984, 2001,

Hansen et al, 2000, и мн. др.), и значительный интерес к этой проблеме в теоретическом плане. Видимо, основные причины этого состоят в низкой вероятности их обнаружения при случайном поиске и в возможном расположении лианных близнецов в **узких** полосках (шириной не более 200мкм), ориентированных строго в сагиттальной плоскости, как это следует из морфологических данных Сугихара с соавт.

Рассмотрим известные косвенные данные. **Слайд 11.** Здесь представлен фрагмент текста из книги М.Ито о расчете количества лианных близнецов путем сопоставления числа клеток нижних олив и КП коры мозжечка. Этот расчет правомерен, поскольку нижние оливы являются **единственным** источником ЛВ и каждая КП получает в большинстве случаев вход от **единственного** ЛВ. **Слайд 12.** Другая группа морфологических данных – от Шайбелов до работы Сугихара 2001 г. – касается количества ветвей оливарных афферентов. В частности, в последней работе, вышедшей уже в процессе нашего исследования и позволившей его скорректировать, в коре мозжечка крысы полностью прослежены ветви 34 аксонов клеток НО и показано, что среднее количество их концевых бутонов равно 7. **Слайд 13.** Аналогичные результаты получены с помощью метода активации аксон-рефлекса в коре мозжечка. **Слайд 14.** Единственный случай отведения синхронных СИ двух КП, без ПИ, приведен в работе Белла и Кавасаки. **Слайд 15.** Во всех остальных работах с регистрацией активности нескольких КП обнаружены только нейроны с низким уровнем синхронизации СИ, со средней вероятностью на уровне сотых. Т.о., из известных данных следует, что КП, иннервируемые одним и тем же оливарным афферентом, должны быть. На поиск пар КП-близнецов, детальный анализ их активности и сопоставление с КП, иннервируемых разными оливарными афферентами и было направлено наше исследование.

Несколько слов о методике. Работа проведена с помощью комплекса специально разработанных методов. Эксперименты выполнены на передней доле червя мозжечка морских свинок и крыс. Для сканирования нейронной и фокальной активности использованы блоки из стеклянных или вольфрамовых микроэлектродов. Оно проведено в узких сагиттальных полосках в условиях фоновой и вызванной активности. В разных экспериментах использованы 1-2 блока из 2-6 микроэлектродов, шаг сканирования изменялся от 50 мкм до 400 мкм. В процессе последовательного перемещения одного из блоков электродов осуществлялся поиск полевых потенциалов, синхронных со СИ референтной клетки. Наличие таких потенциалов могло быть маркером КП, иннервируемой тем же оливарным афферентом, что и референтная и направлять дальнейший поиск. Для этого в режиме on-line анализа проводилась синхронная суммация потенциалов в референтном и тестовых отведениях. Параметры импульсов измерялись по результатам усреднения

потенциалов. Для выявления взаимодействий между ЛВ и ПВ и их зависимости от свойств текущей активности клетки использован авто- и кросскорреляционный анализ во всей выборке импульсов и в некоторых фрагментах, формируемых с помощью наложения дополнительных условий.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Каковы же оказались результаты проведенного нами поиска лианных близнецов?

Слайд 16. В первых экспериментах, в которых точность в ориентации МИЭ в одной сагиттальной оси была ниже требуемой (± 100 мкм), мы получили, в основном, те же результаты, что и описаны в литературе. Выявлены только КП с низким уровнем синхронизации их СИ.

Слайд 17. Причем, такие клетки не распределялись равномерно, а располагались в виде групп с более высоким уровнем синхронизации, отделенных друг от друга областями с практически нулевой синхронизацией. Эти группы КП имели размеры, в среднем, 200×400 мкм. Такое группирование, видимо, отражает известную сагиттальную зонацию коры мозжечка и несколько напоминает обнаруженные нами нейронные ансамбли в ЗКМ. С учетом морфологических данных Сугихара можно было предполагать, что некоторые из искомым лианных близнецов располагаются в пределах таких микрогрупп.

Слайд 18, 19. КП с низким уровнем синхронизации СИ проявляли также ряд других свойств. В частности, моменты синхронизации их активности сопровождались учащением импульсации каждой из клеток и появлением спаренных разрядов с интервалом около 100 мс. В некоторой мере эти результаты сопоставимы с иллюстративными данными K.Sasaki et al, 1989 о корреляции между синхронизацией активности КП, иннервируемых разными оливарными афферентами, и проявлением осцилляторной активности у каждой КП.

Слайд 20. В следующей серии экспериментов, после дополнительных методических модификаций нам удалось зарегистрировать первые 2 пары лианных близнецов. Слева – случай с отведением только СИ у обеих КП, без ПИ – аналогичный случаю, обнаруженному S.Bell, T.Kawasaki, справа – у обеих КП отводились и СИ, и ПИ. В обоих случаях одновременно отводилась еще и третья КП, не имевшая с каждой из клеток-близнецов синхронных СИ. Эти результаты показали, что КП, управляемые общим оливарным афферентом и имеющие высокий уровень синхронизации их СИ, около 1, – реальность и направили дальнейший поиск.

Слайд 21. На сегодняшний день накоплены регистрации активности 26 таких пар. Они представлены 21-й регистрацией активности референтной

КП и низкоамплитудных полевых потенциалов, выявляемых только с помощью накопительного суммирования (слева). Такие полевые СИ имели устойчивые параметры в независимых выборках. Подобно КП-близнецам, идентифицируемым без суммации потенциалов, они регистрировались только в определенных точках и исчезали после смещении тестовых электродов при сохранении активности референтной КП. Обнаруженные свойства полевых СИ позволяют рассматривать их как результат постсинаптического действия на неидентифицированную КП ветви того же оливарного афферента, что и у референтной КП. Феномен низкоамплитудных полевых СИ по сути близок к ответам типа аксон-рефлекса, описанным D.Armstrong et al, 1973 . В пяти случаях тестовые электроды отводили СИ, синхронные со СИ референтной КП и идентифицируемые в оригинальных регистрациях (справа). Как и полевые СИ, такие потенциалы отвечали всем критериям активности КП с общим оливарным афферентом. Средней сдвиг в моментах начала генерации СИ для 26 пар лианых близнецов составил около 600 мкс, а его различие между двумя выборками суммации потенциалов – на порядок меньше. В 17 из 26 случаев регистрации пар лианых близнецов обнаружены существенные различия формы СИ в референтном и тестовом отведениях.

Слайд 22. Пять пар КП-близнецов, идентифицированные в оригинальных отведениях, генерировали СИ одновременно с вероятностью, близкой к 1 (в среднем, $p=0.92$). Однако иногда СИ у одной из КП в паре отсутствовал. Помимо полного блока генерации СИ, обнаруженного у четырех пар клеток, все лианые близнецы проявляют независимую динамику компонент СИ. Обнаруженный феномен избирательной блокады СИ требует дальнейшего детального исследования.

Слайд 23. У трех пар КП-близнецов, помимо синхронных СИ, были зарегистрированы асинхронные ПИ. Для каждой из КП в этих парах был проведен корреляционный анализ их ПИ. Видно, что у двух КП в каждой из пар как автокорреляция их ПИ, так и зависимость активности ПИ от СИ не идентичны, прежде всего, - по характеру взаимодействий. Вместе с тем, просматриваются некоторые черты попарного сходства и различий между парами по временным параметрам активности, как в АКГ, так и в ККГ. Этот факт, видимо, отражает сходную длительность посылки от общего оливарного афферента. При этом обе КП в верхней паре, имеющие сходную форму СИ, медленного типа, проявляли исключительно торможение ПИ после СИ; КП в средней и нижней парах, имеющие разную форму СИ, проявляют существенные различия в эффектах СИ на ПИ.

Слайд 22, повторно. При отдельной суммации потенциалов в режимах синхронной и асинхронной генерации СИ оказалось, что у всех пар КП-близнецов асинхронные СИ были короче по длительности, в среднем на 2

мс, чем синхронные. Это проявлялось также в том, что степень синхронизация длительных СИ была значительно выше, чем у СИ короткой длительности ($p=0.95$ и 0.75 , соответственно). Напротив, у пар КП, иннервируемых разными клетками нижних олив, лишь в редких случаях, у рядом расположенных клеток, длительность СИ изменялась синхронно.

Слайд 24. КП, иннервируемые одним и тем же и разными оливарными афферентами сравнивались также по степени коррелированности их ПИ. Оказалось, что у лианных близнецов ККГ между их ПИ имеют относительно выраженный центральный пик, что более заметно в начальных фрагментах активности после СИ. У КП, связанных с разными оливарными афферентами, синхронизация их ПИ практически отсутствует, а незначительный всплеск заметен только у нейронов, расположенных на расстоянии 100-200 мкм друг от друга.

Таким образом, КП, иннервируемые одним и разными оливарными афферентами, имеют существенные различия в степени синхронизации не только их СИ, но и ПИ.

Слайд 25. Однако, как уже отмечалось, и лианные близнецы проявляют достаточно выраженные различия активности, прежде всего в свойствах их СИ. Это позволило предположить, что важнейшим фактором в регуляции характера взаимодействий СИ, вызываемых лианными волокнами, и ПИ, связанных с активностью параллельных волокон, могут быть внутренние свойства КП. Для проверки этого предположения в выборке из 44 нейронов по степени проявления медленной составляющей в СИ были выделены 3 группы клеток: КП со СИ быстрого, промежуточного и медленного типов. Помимо формы, СИ трех типов различались по интервалу между первичным и последующими компонентами СИ, а также по амплитуде медленного потенциала, следующего за основным комплексом колебаний СИ. Активация ПИ после СИ была наиболее выражена у КП первой группы, в то время как в третьей группе проявлялось, в основном, длительное торможение (инактивация). Сводные результаты анализа активности КП трех групп отражены на следующих двух слайдах: **Слайд 26.** Видно, что все КП с СИ данного типа проявляют описанные свойства активности. **Слайд 27.** Здесь видно, что, в отличие от длительности СИ и интенсивности активации в АКГ простых импульсов и в ККГ между СИ и ПИ, частота СИ и ПИ у КП с разным типом СИ сходна, что косвенно указывает на сходство посылок к ним по внешним входам, как по ЛВ, так и по ПВ. **Слайд 28.** Обнаружена также корреляция ряда параметров ПИ и СИ у данной КП. При этом КП с быстрым СИ имели и ПИ быстрого типа, который быстро восстанавливал свою амплитуду после предыдущего ПИ в отличие от КП с медленным СИ. Такая корреляция и сохранение типа СИ в течении всего времени регистрации данной КП, вплоть до травматического разряда

(наблюдавшегося у некоторых КП при смещении МИЭ), позволили предположить, что тип СИ может определяться свойствами мембраны и, возможно, размером клетки. В свою очередь, параметры СИ, генерируемого данной КП, критически влияют на поведение ПИ. Следовательно, взаимодействия между входами ЛВ и ПВ в значительной мере подчинены свойствам КП, на которой оканчиваются эти афферентные входы.

Слайд 29. У большинства КП наиболее выраженная вариабельность обнаружена в поздних компонентах СИ. Поэтому в качестве первого подхода к количественному анализу вклада различных факторов в вариабельность активности КП была выбрана именно длительность СИ.

Слайд 30. У каждой из 104 детально проанализированных КП, их СИ были разделены на две или три группы, различающиеся по длительности на 2-3 мс. Здесь показаны 2 примера КП с тремя выборками СИ. Видно сходство начальных компонент СИ в разных выборках, в то время как амплитуда поздних компонент основного колебания СИ и плато-потенциала возрастает при увеличении длительности СИ. ККГ иллюстрируют большую выраженность посттормозной активации ПИ после СИ короткой длительности. Эта активация у медленных КП проявлялась как небольшой подъем на фоне торможения. Напротив, длительные СИ, даже быстрого типа, вызывали преимущественно торможение ПИ.

Слайд 31. Об этом же свидетельствуют сводные результаты анализа активности всех КП.

Т.о, в процессе регистрации активности одной и той же КП обнаружена выраженная зависимость характера взаимодействий ЛВ и ПВ от длительности текущего СИ. Как уже отмечалось, длительность СИ изменялась синхронно у лианых близнецов. Это может указывать на то, что СИ разной длительности и с различным количеством компонент возникают в ответ на разные послышки от клеток нижних олив.

Слайд 32. Обнаружен также ряд других феноменов динамики активности ПИ после СИ. Так, во время основного комплекса колебаний СИ и сразу после него ПИ, типичные для данной КП, чаще всего не возникали. Вместе с тем, при переходе от основного комплекса колебаний к медленному потенциалу могли возникать ПИ, нетипичные для данной КП. Они имели иную амплитуду и соотношение фаз, чем до СИ, большую длительность и были приурочены к компонентам СИ с резким фронтом. Во всех случаях, даже у медленных КП, не проявляющих визуально заметной посттормозной активации ПИ после СИ, такие нетипичные ПИ генерировались в виде разрядов с коротким интервалом, порядка 5 мс, отличавшимся от характерного для данной КП - в среднем, около 10 мс. По-видимому,

нетипичные ПИ могут быть обусловлены, в основном, прямым воздействием СИ на мембрану КП, а не потенциацией входов ПВ. Обнаруженный феномен указывает на возможность кодирования информации о СИ в выходной активности КП за счет сдвига межимпульсного интервала.

Слайд 33. Как уже отмечалось, увеличение степени синхронизации СИ сопровождается возрастанием их частоты и появлением спаренных разрядов с интервалом около 100 мс. Такие разряды были выбраны как еще один возможный фактор, определяющий вариабельность активности КП. Проведено сравнение взаимодействий СИ и ПИ при изменении интервала между СИ. Для этого в регистрациях одних и тех же КП выбирались фрагменты активности, удовлетворяющие некоторому условию.

Слайд 34. Затем строились ККГ между СИ и ПИ отдельно для первого и второго СИ при выбранных интервалах. Оказалось, что поведение ПИ на второй СИ в паре существенно зависит от времени, прошедшего с момента генерации предыдущего импульса. **Слайд 35.** С другой стороны, зависимость от уровня частоты ПИ, предшествующих данному СИ, была менее выраженной.

Т.о., даже в условиях фоновой активности КП обнаруживается выраженная динамика взаимодействий СИ, опосредованных входами ЛВ, и ПИ, связанных с входами ПВ. Такая динамика зависит от многих факторов, определяющими среди которых являются параметры текущего СИ и тип КП, на котором конвергируют входы ЛВ и ПВ.

Слайд 36. 75 КП были протестированы на тактильную стимуляцию и на электрическое раздражение молекулярного слоя коры мозжечка. Предварительный анализ полученных данных показал, что у трети КП оба вида стимулов вызывали нерегулярные ответы СИ и нередко приводили к длительному торможению ПИ. СИ, вызванные стимуляцией, имели, как правило, большую длительность и количество компонент, чем СИ в условиях фоновой активности. Они приводили к инактивации ПИ даже у тех КП, у которых СИ в фоне их активировали.

Слайд 37, 38. Основные итоги проведенных исследований состоят в следующем:

- 1) впервые зарегистрировано значимое количество пар КП – лианых близнецов;
- 2) показано большее сходство активности этих КП по сравнению с клетками, иннервируемыми разными оливарными афферентами, зарегистрированными в тех же экспериментах;

- 3) с помощью этого объекта удалось получить совокупность новых фактов об особенностях активности КП, позволяющих по-новому взглянуть на механизмы взаимодействия ЛВ и ПВ;
- 4) полученные результаты позволяют также дать возможные объяснения некоторых противоречий в известных данных о характере взаимодействия ЛВ и ПВ.

О новизне. Проведена классификация параметров формы СИ у разных КП, ранее разнообразие форм СИ лишь констатировалось. По совокупности свойств СИ и ПИ выделены медленные и быстрые КП.

Обосновано, что СИ не может рассматриваться как унитарное явление, как ранее, его длительность, видимо, отражает вариации в количестве импульсов, поступающих к данной КП по ЛВ. Показано, что незначительное увеличение длительности СИ приводит к резкому изменению характера активности ПИ после СИ – от активационных до инактивационных.

Обнаружен характерный сдвиг интервала в активности ПИ после СИ, который может нести информацию о состоянии клеток нижних олив к клеткам ядер мозжечка и избирательно активировать систему торможения в них. Кроме того, из полученных данных следует, что первичные эффекты входов ЛВ на КП могут быть обусловлены прямым раздражающим действием, а не взаимодействием со входами ПВ. Для корректного исследования механизмов взаимодействий ЛВ и ПВ должны быть разработаны четкие критерии разделения типичных ПИ, вызванных активацией ПВ, и нетипичных, вызванных раздражающим действием эндогенного электрического стимула, т.е., - сложного импульса.

О возможных объяснениях противоречий в известных данных.

Во-первых, полученные нами результаты позволяют объяснить данные С. McDevitt et al, 1982, согласно которым у одних и тех же КП в условиях фоновой активности СИ может активировать ПИ, в то время как стимуляция приводит к доминированию торможения. Мы получили результаты, аналогичные С. J. McDevitt, которые коррелировали с динамикой параметров СИ.

Во-вторых, возможную роль в разночтении результатов, полученных разными авторами, может играть избирательность микроэлектродов. Как следует из нашего опыта, вольфрамовые МИЭ отводят более стабильно быстрые КП, чем медленные. Стекланные же МИЭ обеспечивают стабильность отведения и медленных КП. С учетом обнаруженных функциональных различий быстрых и медленных КП, преобладание в выборке зарегистрированных нейронов того или иного типа может

приводить к доминированию или возбуждательных или тормозных взаимодействий между входами ЛВ и ПВ.

И наконец, полученные нами результаты о различиях эффектов СИ на ПИ в режиме единичных и спаренных разрядов позволяют объяснить известные данные о преимущественно тормозных влияниях при сериальной стимуляции ЛВ в отличие от возбуждающих - при использовании единичных импульсов (M.Ito, 1984).

Т.о., благодаря разработке специальной техники эксперимента КП, иннервируемые общим оливарным афферентом, в настоящее время удается регистрировать в том или ином виде практически в каждом опыте. Однако их поиск оказался отнюдь не менее простой задачей, чем идентификация нейронных ансамблей в ЗКМ.

Подобно НА в ЗКМ, группы КП-лианнных близнецов в мозжечке образованы функционально гетерогенными клетками - "быстрыми" и "медленными" нейронами, имеющими различие в ряде функциональных свойств, являющихся, очевидно, следствием различий в реактивности их мембраны. Аналогичная гетерогенность клеток в мотонейронных пулах и в колонках зрительной коры (клетки типа X, Y, W) является хорошо документированным фактом.

Итак, эффективная экспериментальная реализация задачи поисковых исследований и выявление ряда новых свойств активности КП с помощью лианнных близнецов свидетельствуют о широких возможностях применения выбранного объекта. Видимо, некоторая аналогия экспериментов данного типа с экспериментами в физике, направленными на поиск редко встречающихся событий вполне допустима (Дунин-Барковский В.Л. , 1992-1999). На следующих этапах исследования с помощью лианнных близнецов будет изучена:

- иерархия феноменов и механизмы вариабельности активности КП;
- роль системы торможения в коре мозжечка;
- механизмы генерации разных видов активности одной и той же КП;
- роль параметров СИ в длительной динамике активности (в частности, в возникновении длительной депрессии ПИ);
- характер взаимодействия выходной активности КП-близнецов на клетках ядер мозжечка, на которых они могут конвергировать.