
Основы клеточной нейрофизиологии

1.1 Введение

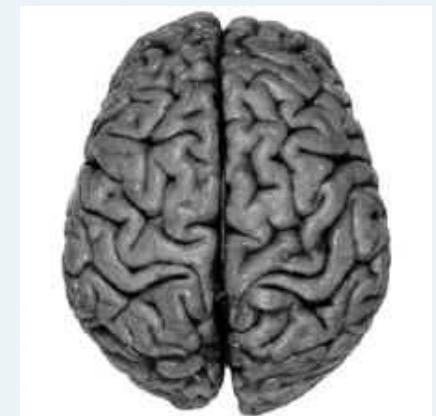
Семьянов Алексей Васильевич

Мозг – основа существования человека и общества

Достижения человечества (наука, искусство, политика, экономика, технологии) существуют благодаря разуму, вместилищем которого является головной мозг

Следствие: Все продукты цивилизации адаптированы и ограничены возможностями мозга (мозг способен получать лишь определенные типы информации, обрабатывать ее лишь в ограниченном объеме и с ограниченной скоростью).

Решения: развитие техники, эффективное использование мозга (методы обучения, продление полноценной работы стареющего мозга), совершенствование мозга



Экономические стимулы исследований мозга

Неврологические заболевания и травмы вовлекающие головной мозг приносят значительный экономический ущерб (особенно в развитых странах)

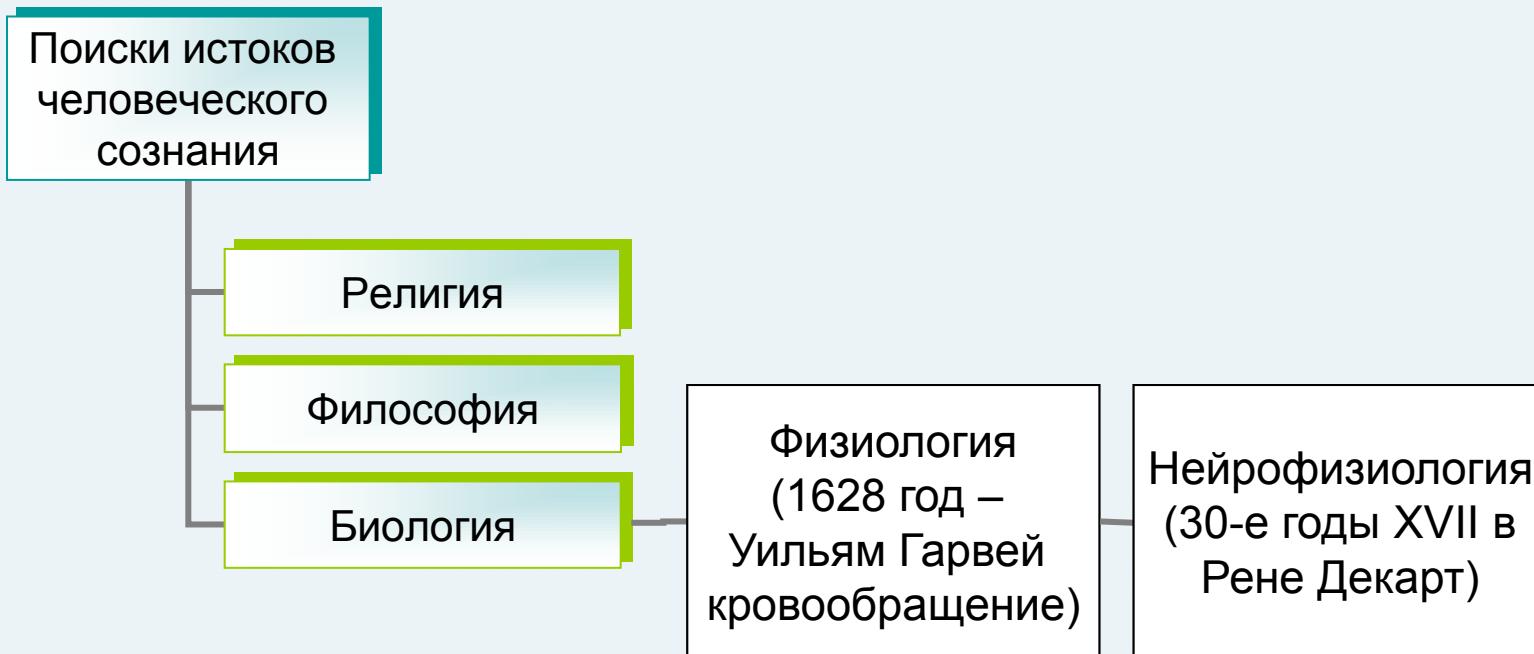
THE TOLL OF SELECTED BRAIN AND NERVOUS SYSTEM DISORDERS*

<u>Condition</u>	<u>Total Cases</u>	<u>Costs Per Year</u>
Hearing Loss	28 million	\$ 56 billion
All Depressive Disorders	20.5 million	44 billion
Alzheimer's Disease	4.5 million	100 billion
Huntington's Disease	30,000	2 billion
Stroke	4.7 million	51 billion
Schizophrenia	2 million	32.5 billion
Parkinson's Disease	1 million	5.6 billion
Traumatic Head Injury	5 million	56.3 billion
Multiple Sclerosis	2.5 million	9.5 billion
Spinal Cord Injury	250,000	10 billion

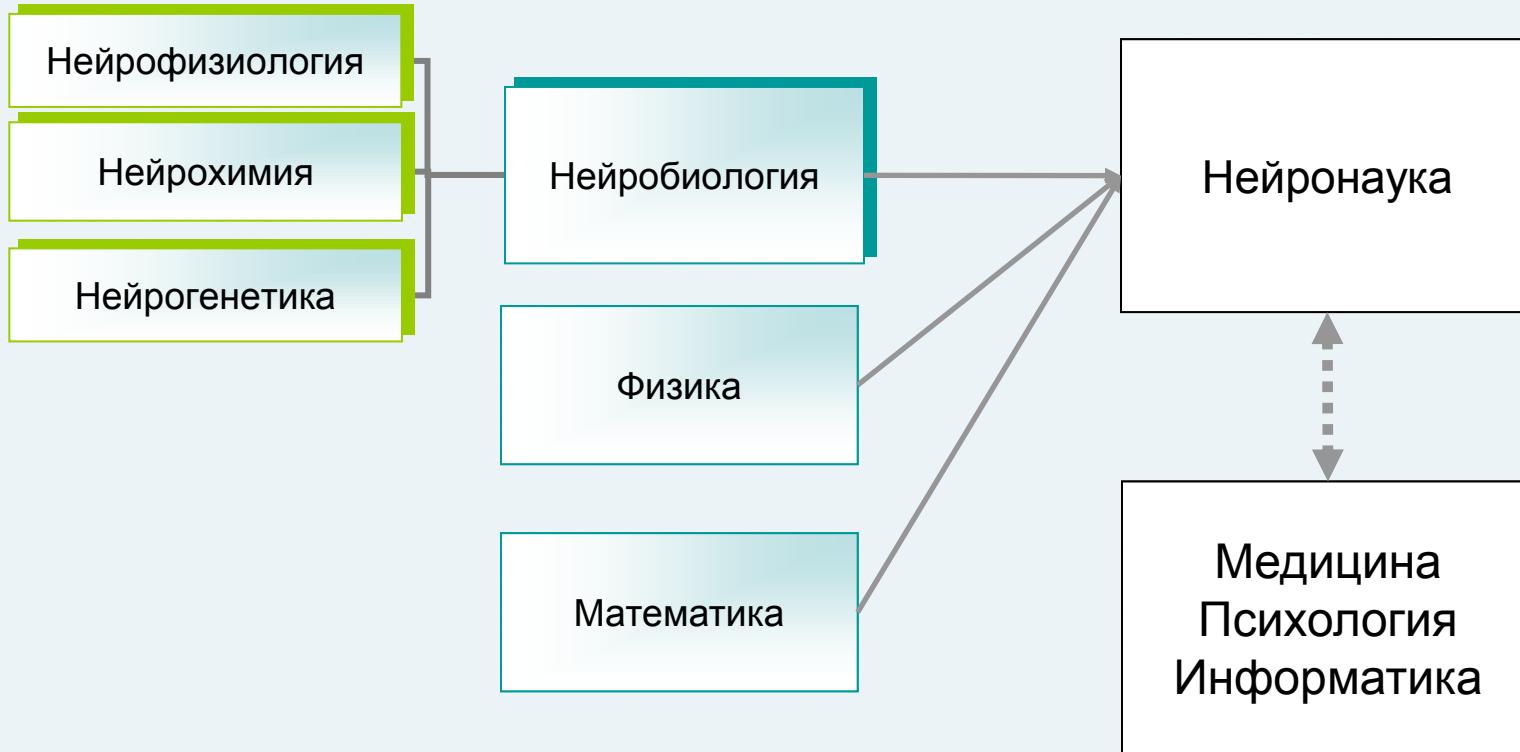
* Estimates provided by the National Institutes of Health and voluntary organizations.

Зависимости наносят вред здоровью и экономический ущерб
алкоголизм, курение, наркомания

Возникновение нейрофизиологии



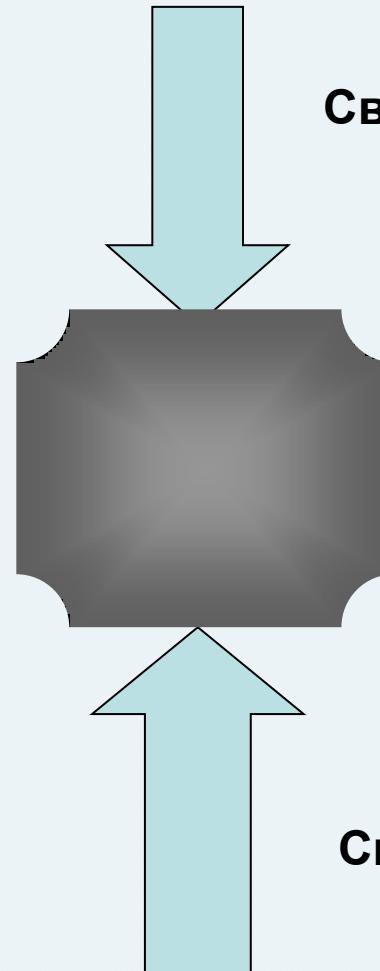
Возникновение современной нейронауки



Уровни изучения мозга

Методические подходы

- Социальные взаимодействия
- Системный уровень (высшие нервные функции)
- Взаимодействие между структурами мозга
- Функциональная организация локальных нейронных и глиальных сетей
- Процессы на клеточном уровне и передача сигнала от клетки к клетке
- Молекулярные механизмы

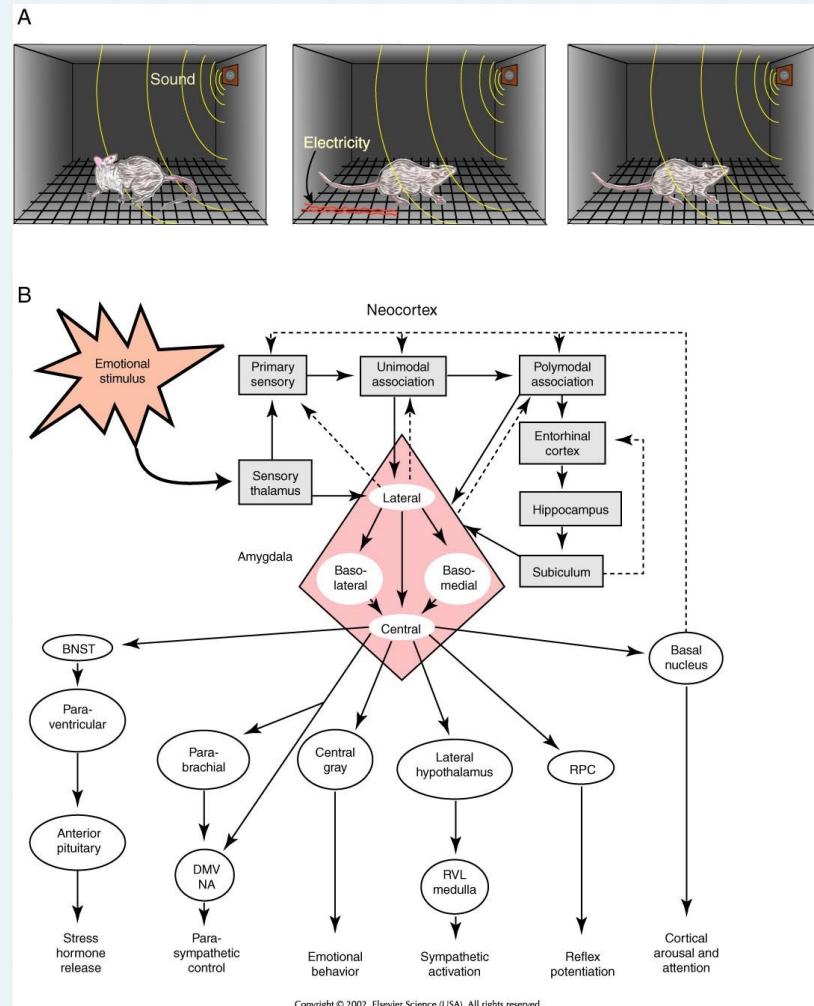
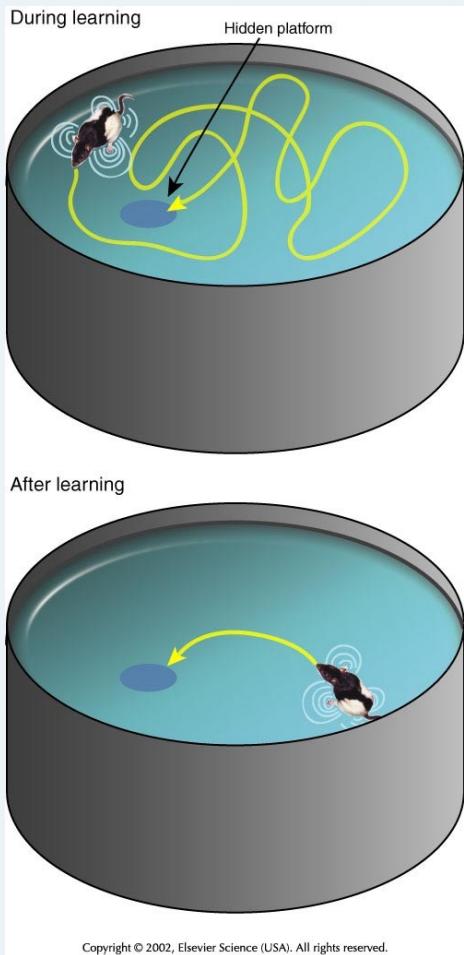


Методы экспериментального изучения мозга

- Поведенческие методики (лабиринт Морриса, открытое поле)
- Электроэнцефалография
- Функциональный имиджинг (компьютерная томография (СТ), функциональная магнитно-резонансная томография (fMRI), позитронно-эмиссионная томография (PET))
- Оптический имиджинг (конфокальная и мультифотонная микроскопия)
- Клеточная электрофизиология (in vivo, на срезах мозга, в культуре клеток)
- Электронная микроскопия
- Иммуноцитохимия
- Методы нейрохимии и молекулярной биологии

Наблюдается тенденция к объединению различных методов в одном научном проекте

Поведенческие методики

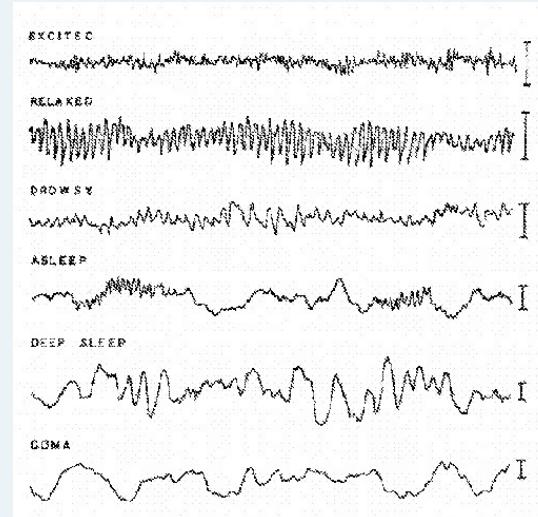


Методы экспериментального изучения мозга

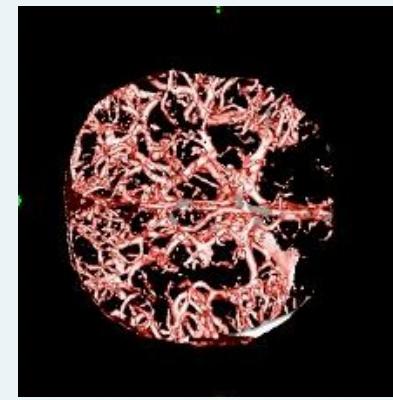
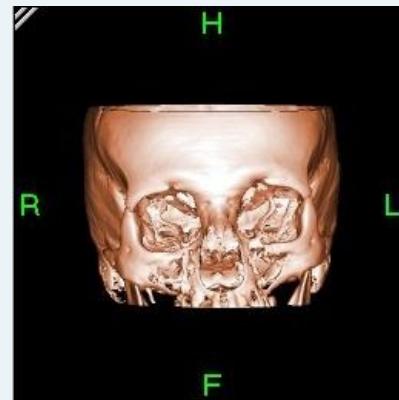
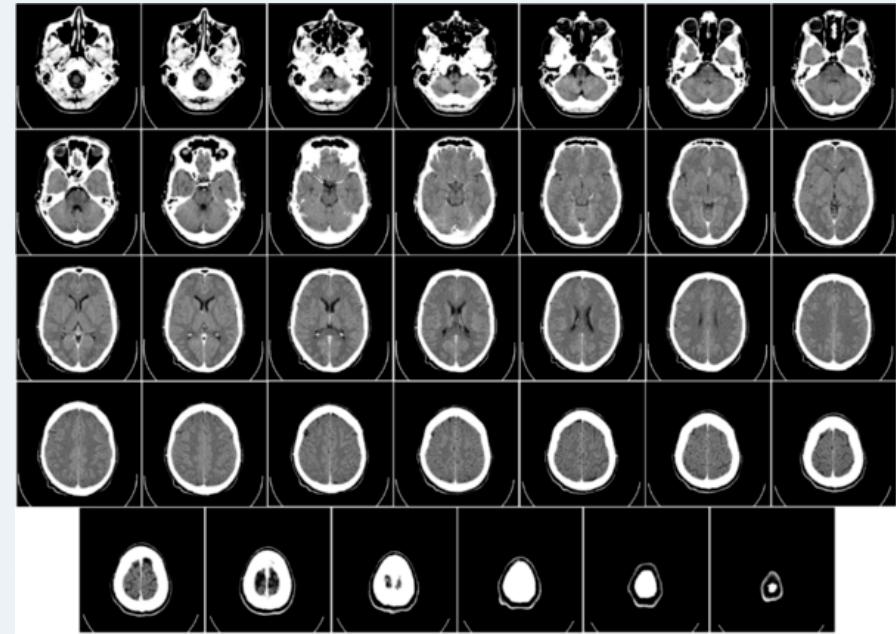
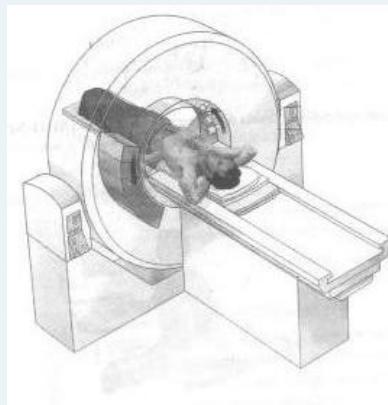
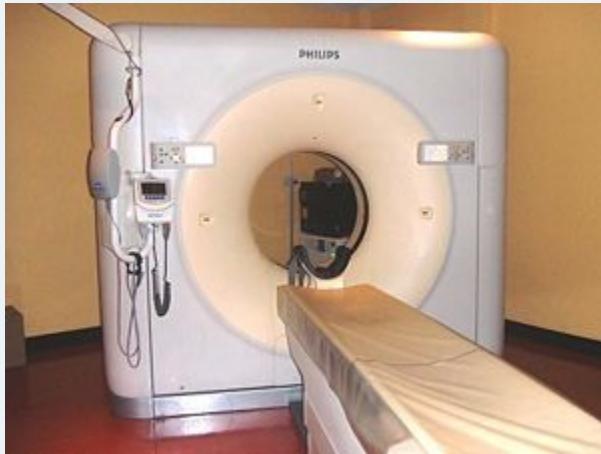
- Поведенческие методики (лабиринт Морриса, открытое поле)
- Электроэнцефалография
- Функциональный имиджинг (компьютерная томография (СТ), функциональная магнитно-резонансная томография (fMRI), позитронно-эмиссионная томография (PET))
- Оптический имиджинг (конфокальная и мультифотонная микроскопия)
- Клеточная электрофизиология (in vivo, на срезах мозга, в культуре клеток)
- Электронная микроскопия
- Иммуноцитохимия
- Методы нейрохимии и молекулярной биологии

Наблюдается тенденция к объединению различных методов в одном научном проекте

Электроэнцефалография



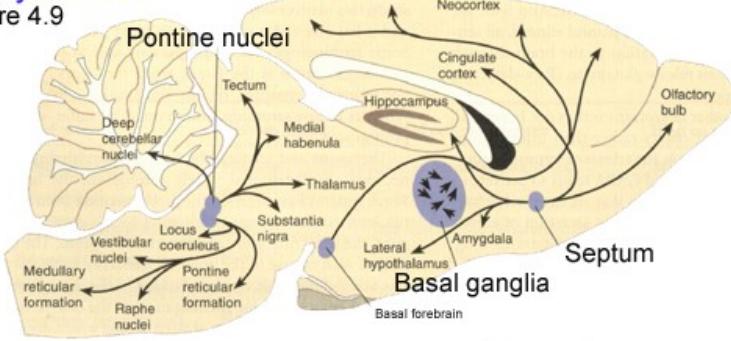
Компьютерная томография



Связи между структурами мозга

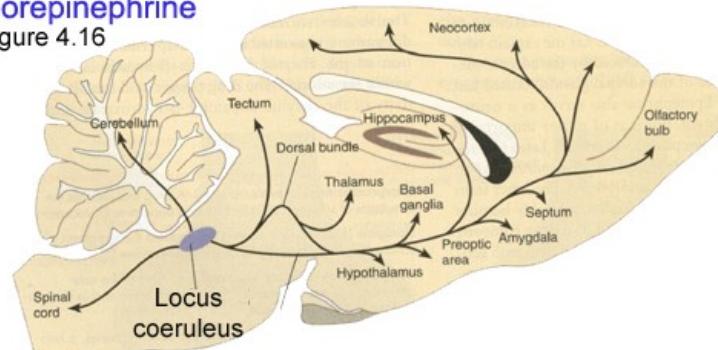
Acetylcholine

Figure 4.9



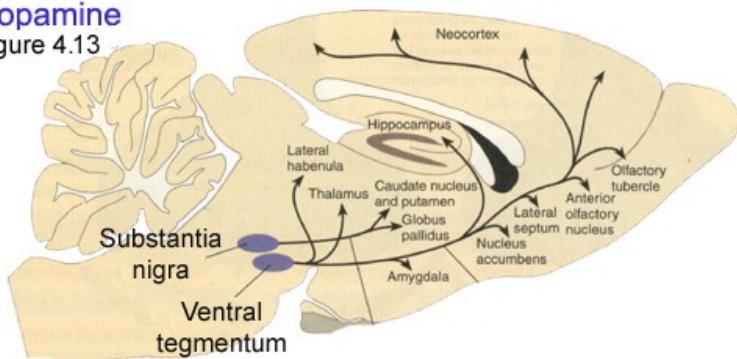
Norepinephrine

Figure 4.16



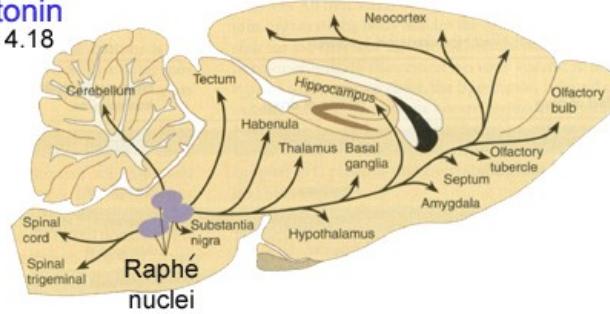
Dopamine

Figure 4.13



Serotonin

Figure 4.18



Ядерный магнитный резонанс

ядерный магнитный резонанс (ЯМР) — резонансное поглощение электромагнитной энергии веществом, содержащим ядра с ненулевым спином во внешнем магнитном поле, обусловленное переориентацией магнитных моментов ядер

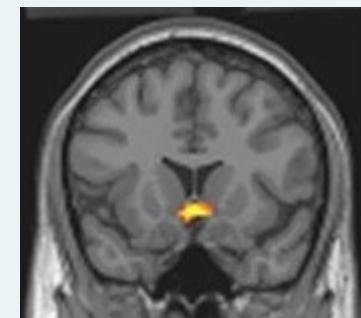
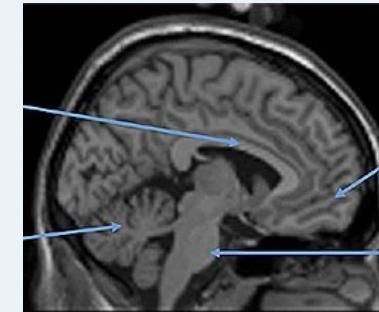
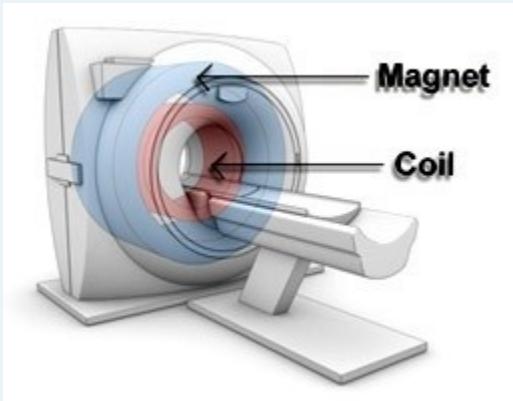
1960 г - В. А. Иванов изобрел в СССР ЯМР-томографию

1973 г - Пол Лотербур «переоткрыл» метод, затем Питер Мэнсфилд усовершенствовал математические алгоритмы получения изображения

1986 г – ЯМР переименован в МРТ в связи с развитием радиофобии у людей после Чернобыльской аварии

2003 г - Питер Мэнсфилд и Пол Лотербур получили Нобелевскую премию

Функциональная магнитно-резонансная томография

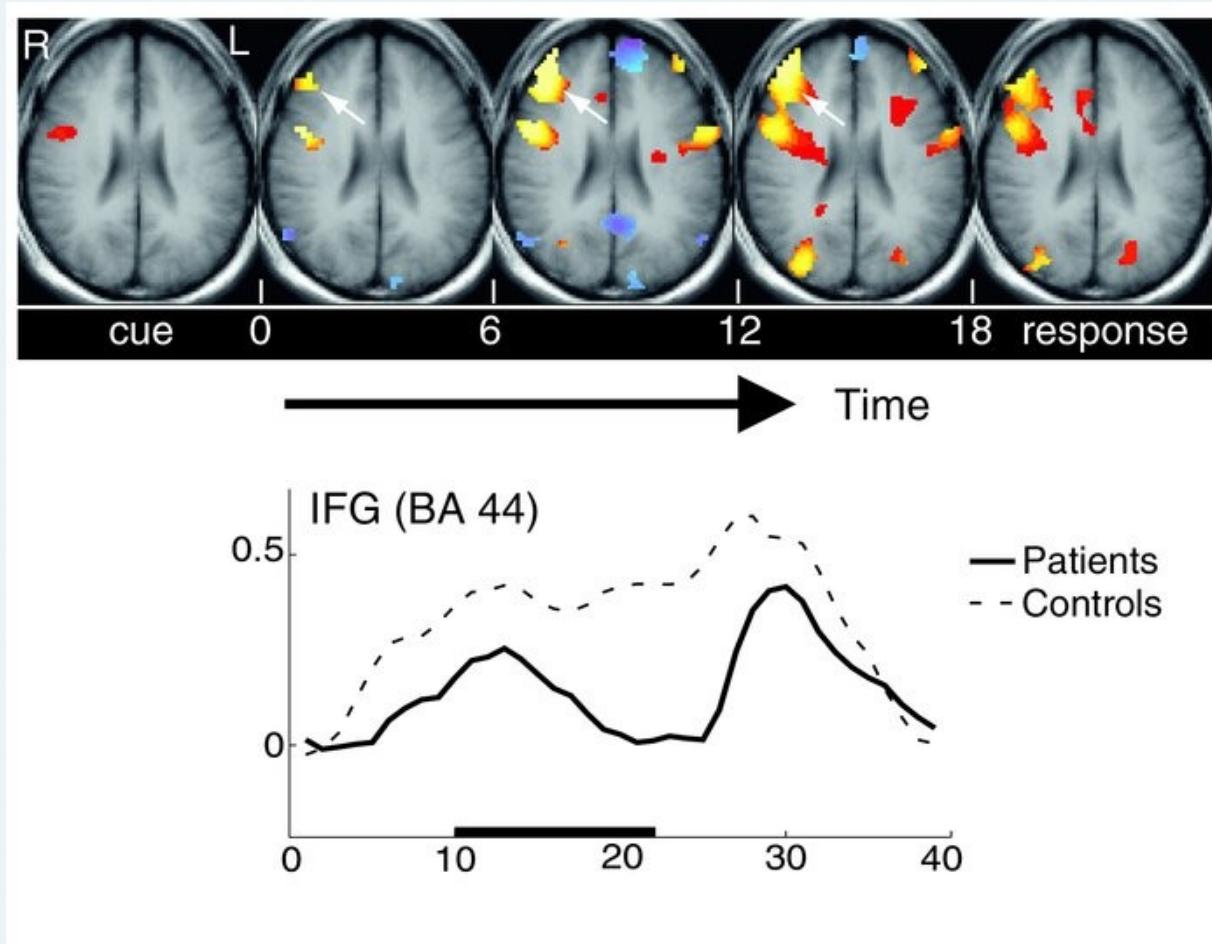


BOLD-fMRI (Blood-Oxygen-Level-Dependent fMRI)

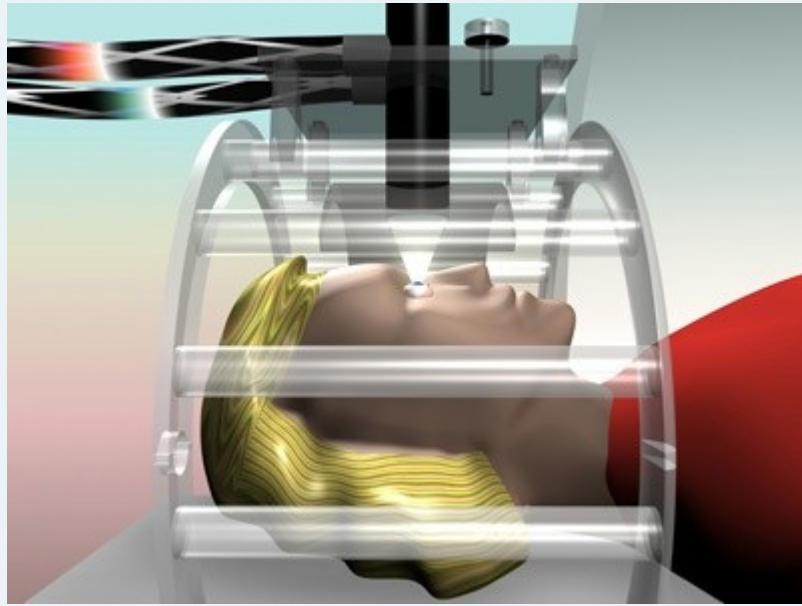
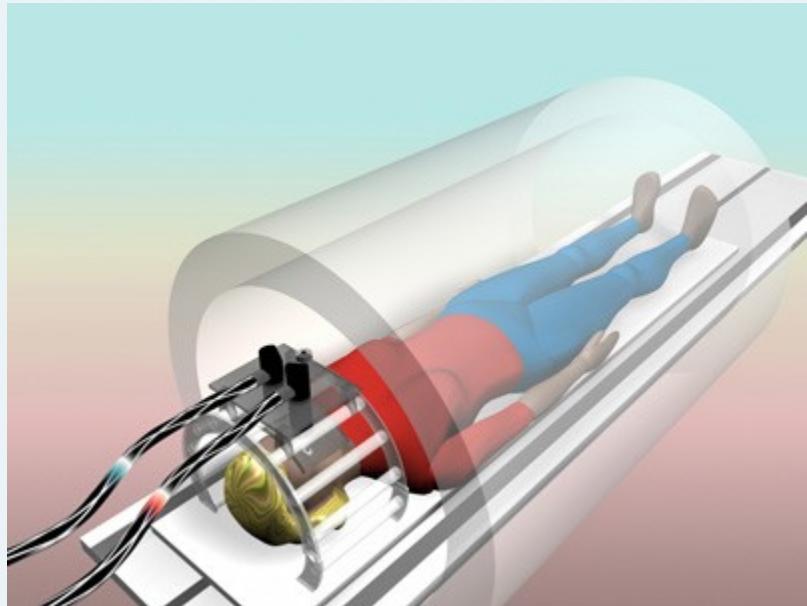
оксигемоглобин – диамагнетик (намагничивается против направления внешнего магнитного поля)

дезоксигемоглобин – парамагнетик (результатирующее магнитное поле усиливается)

Ответ нижней лобной извилины на вербальную задачу у здоровых и больных шизофренией

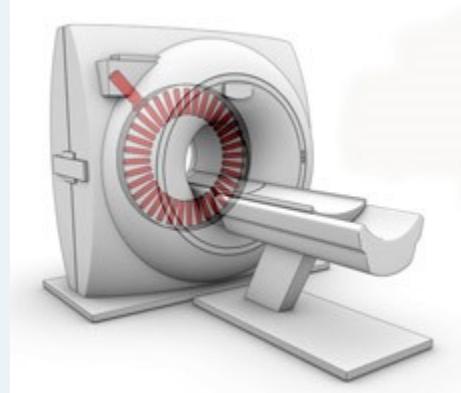
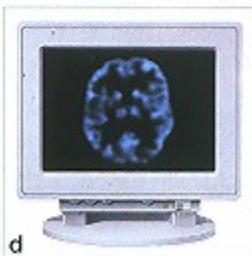
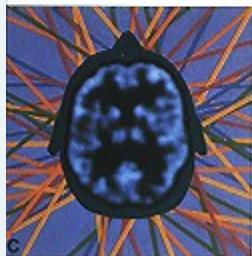
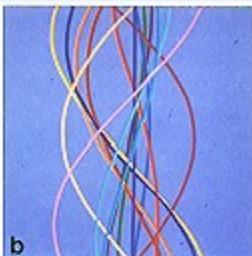
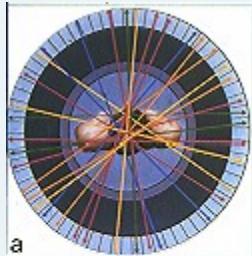


Использование виртуальной реальности с МРТ



Hunter Hoffman, U.W.

Позитронная эмиссионная томография



В кровь вводится вещество излучающее позитроны.
Позитроны аннигилируют с электронами и излучают 2 гамма кванта

Метод позволяет прямо оценивать изменения в кровотоке мозга

Методы экспериментального изучения мозга

- Поведенческие методики (лабиринт Морриса, открытое поле)
- Электроэнцефалография
- Функциональный имиджинг (компьютерная томография (СТ), функциональная магнитно-резонансная томография (fMRI), позитронно-эмиссионная томография (PET))
- Оптический имиджинг (конфокальная и мультифотонная микроскопия)
- Клеточная электрофизиология (*in vivo*, на срезах мозга, в культуре клеток)
- Электронная микроскопия
- Иммуноцитохимия
- Методы нейрохимии и молекулярной биологии

Наблюдается тенденция к объединению различных методов в одном научном проекте

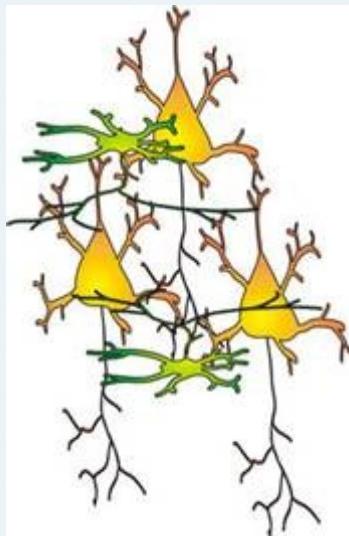
Теоретические методы изучения мозга

- Создание моделей работы нейрональных сетей
 - Поиск фундаментальных принципов работы мозга
 - Объяснение экспериментальных данных
 - Создание искусственного интеллекта
- Электронные схемы и роботы
 - Создание мозг-подобных устройств для автоматизации и управления
 - Создание биороботов
- Интерфейс мозг-компьютер

1.2 Клеточная организация мозга

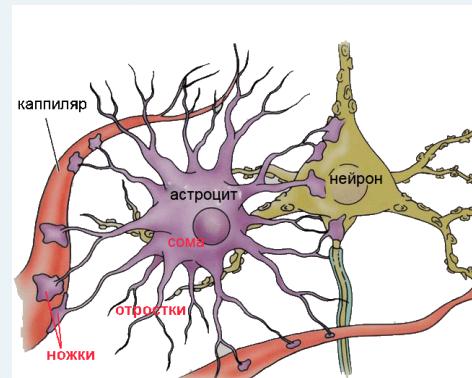
Типы клеток мозга

Нейроны



Передача, обработка
и хранение
информации

Глиальные клетки (в разы больше, чем нейронов)



Трофическая,
метаболическая,
сигнальная и др
функции

Клетки кровеносных сосудов



Питание мозга
Доставка БАВ
ГЭБ
(нарушение мозгового
кровообращения
инфаркт,
болезнь Алцгеймера)

Клеточная организация центральной нервной системы

фиксированные клетки

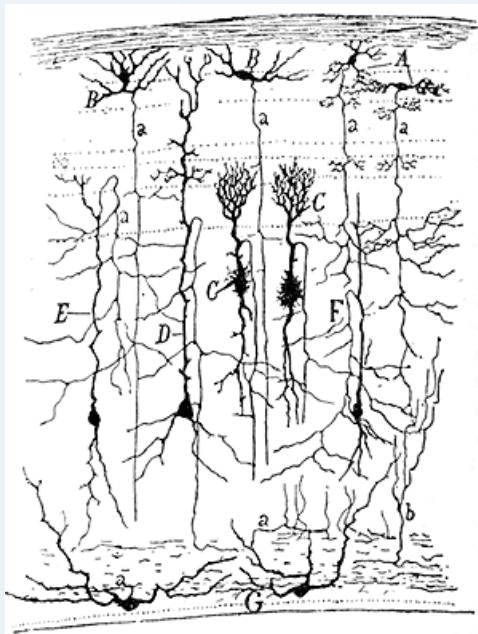
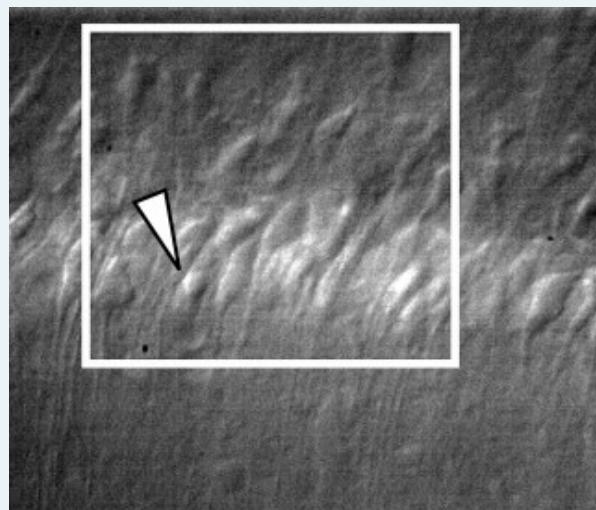


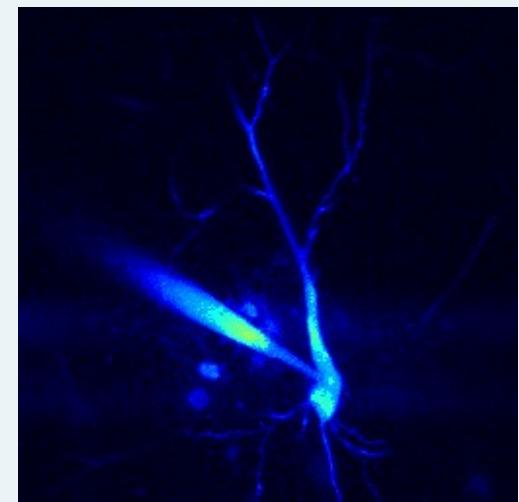
Рисунок Рамон-и-Кахаль
(импрегнация серебром
по Гольджи)

живые клетки



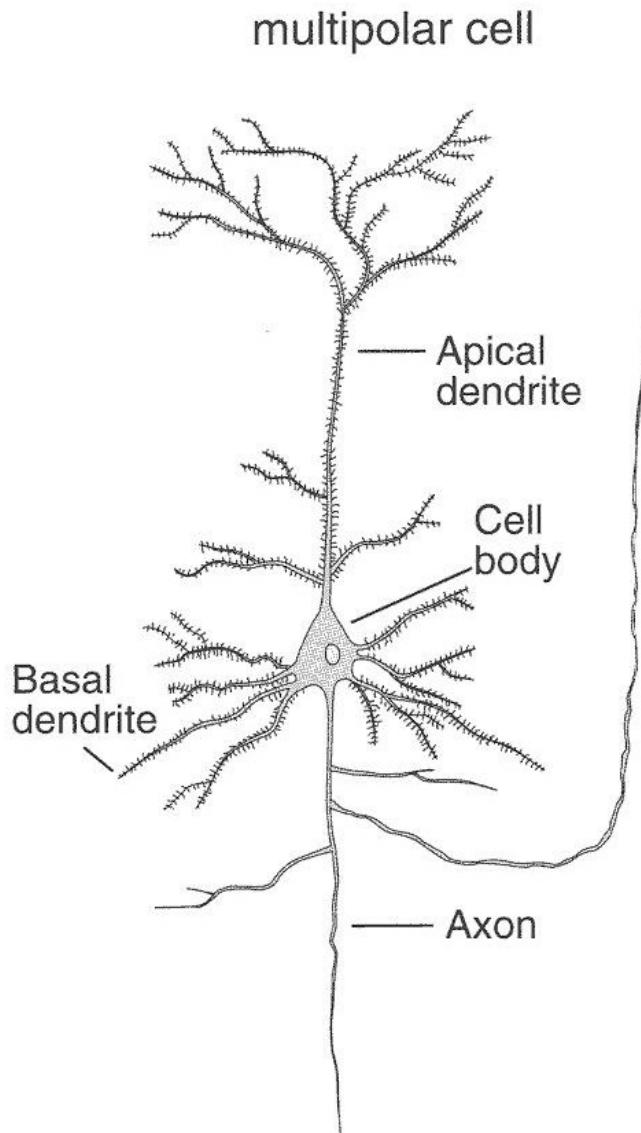
микроскоп с
дифференциальным
интерференционным
контрастом
в инфракрасном свете
(ИК ДИК)

флуоресцентный
имиджинг



двуфотонный
лазерный сканирующий
микроскоп

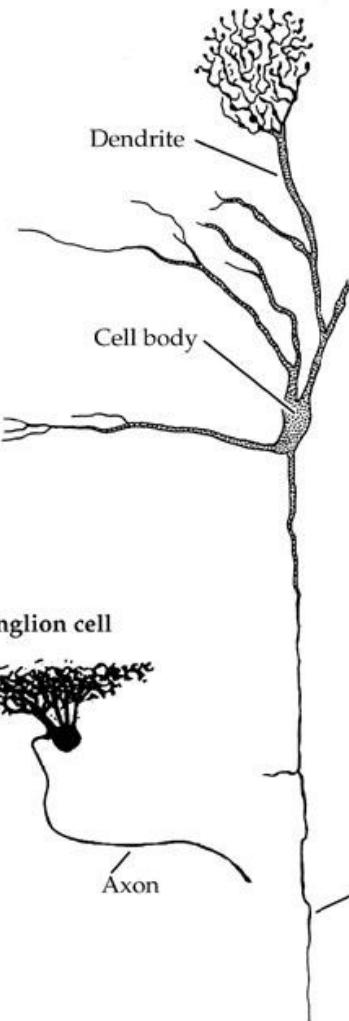
Нейрон



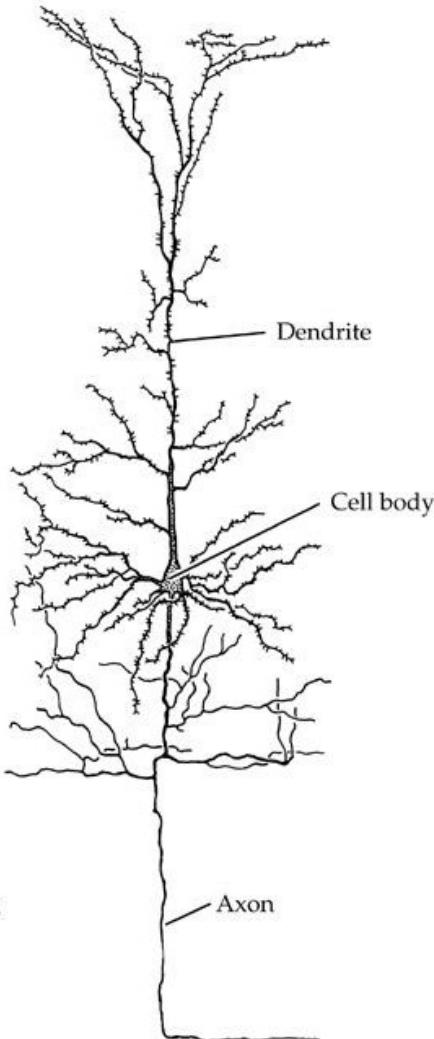
- **Сома, или тело**, диаметр сомы достигает 100 мкм и более, у самых мелких - около 5 мкм.
- **Дендриты** - цитоплазматические выросты увеличивающие пространственную локализацию нейрона. На них расположены синапсы с другими нейронами. Некоторые нейроны имеют на дендритах специализированные выросты – **шипики**, являющиеся специализированной постсинаптической частью глутаматных синапсов.
- **Аксон** - удлиненный вырост цитоплазмы, структурно и функционально приспособленный для проведения потенциалов действия. У позвоночных животных он может иметь миелиновую оболочку.
- **Аксональный холмик** – начальный участок аксона, имеющий высокую вероятность генерации потенциала действия
- **Аксональные расширения** – пресинаптические терминали

Разнообразие форм нейронов

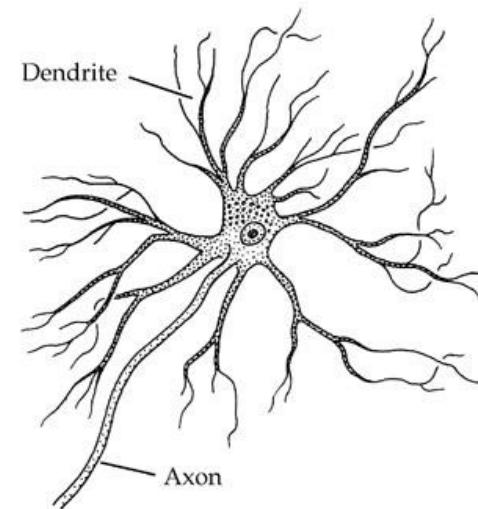
Mitral cell from olfactory bulb



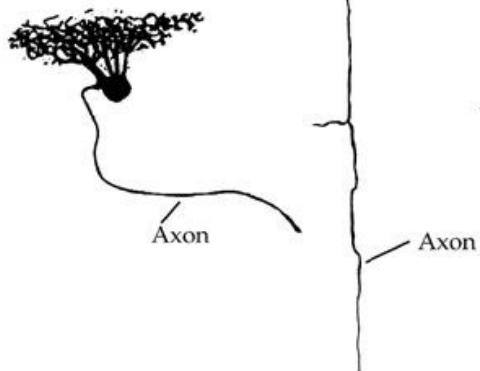
Pyramidal cell from cortex



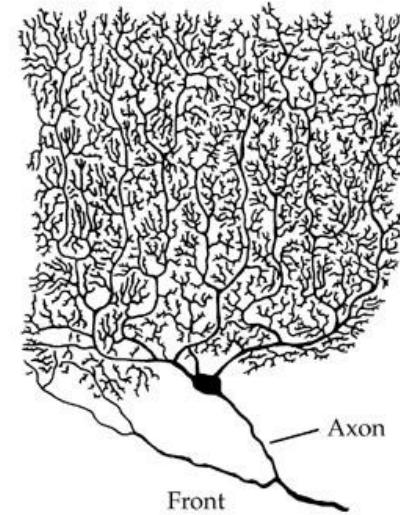
Motor neuron from spinal cord



Ganglion cell



Purkinje cell



Классификация нейронов

1. Функциональная

- Тормозные, возбуждающие нейроны
- Принципиальные нейроны, интернейроны прямой и обратной связи

2. Цитохимическая

- Глутаматергические, ГАМКергические – по нейромедиатору
- По кальций-связывающим белкам

3. Морфологическая

- Униполярные, биполярные, мультиполярные
- Пирамидные клетки, гранулярные клетки, корзинчатые клетки
- Шипиковые и нешипиковые нейроны

4. Биофизическая

- По порогу генерации потенциалов действия
- По аккомодации порога потенциалов действия и частоте разрядов

Похожая классификация используется и для глии

История изучения глии

- 1856 год Рудольф Вирхов предложил термин «Нейроглия» - некоторая субстанция которая заполняет пространство между нейронами.
- 1897 год Рамон Кахаль «Гистология нервной системы» - описывает астроциты – функция электрической изоляции нейронов.
- 1955 год Пол Глис – высказывает предположение, что глия вовлечена в синаптическую активность
- 1965 год Холгер Гайдн и Пол Ланге – нейрон и глия формируют функциональную единицу, в которой оба элемента оказывают воздействие друг на друга

Типы глиальных клеток в ЦНС

Микроглия, происходит из мезодермы – зародышевой соединительной ткани (Специализированные макрофаги).

Макроглия, происходит из нейроэктодермы

- **Эпиндемоциты**

выстилают полости внутри мозга и имеют цилии помогающие циркуляции спинномозговой жидкости

- **Астроциты**

самые многочисленные глиальные клетки

Плазматические (в сером веществе)

Волокнистые (в белом веществе)

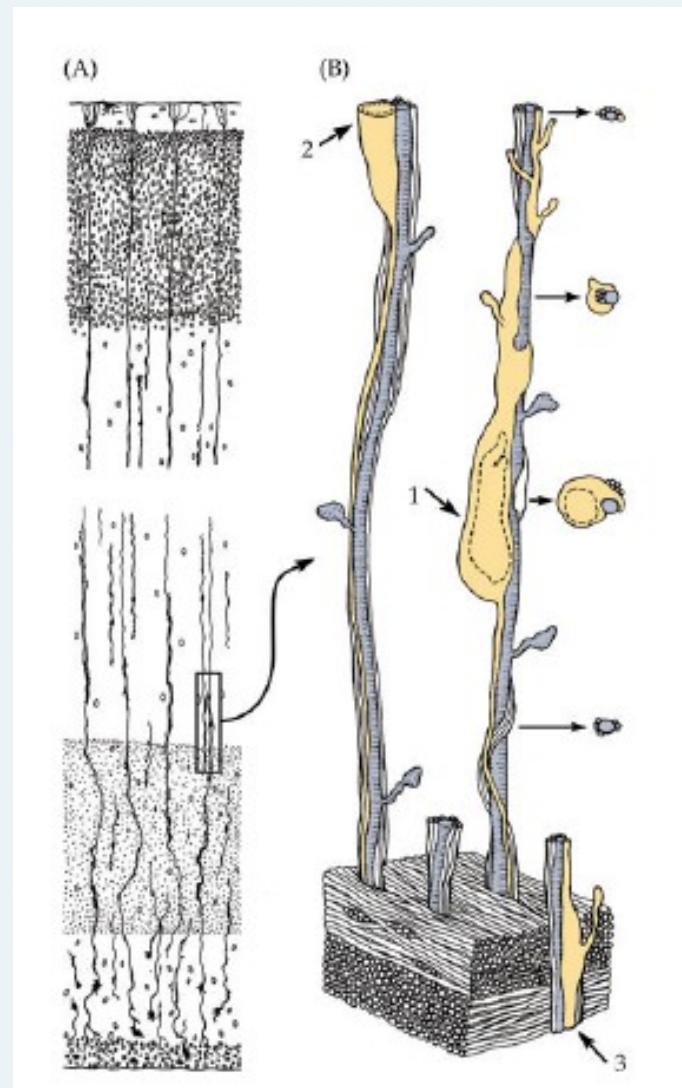
- **Олигодендроциты**

формируют миелин – электрическая изоляция аксонов

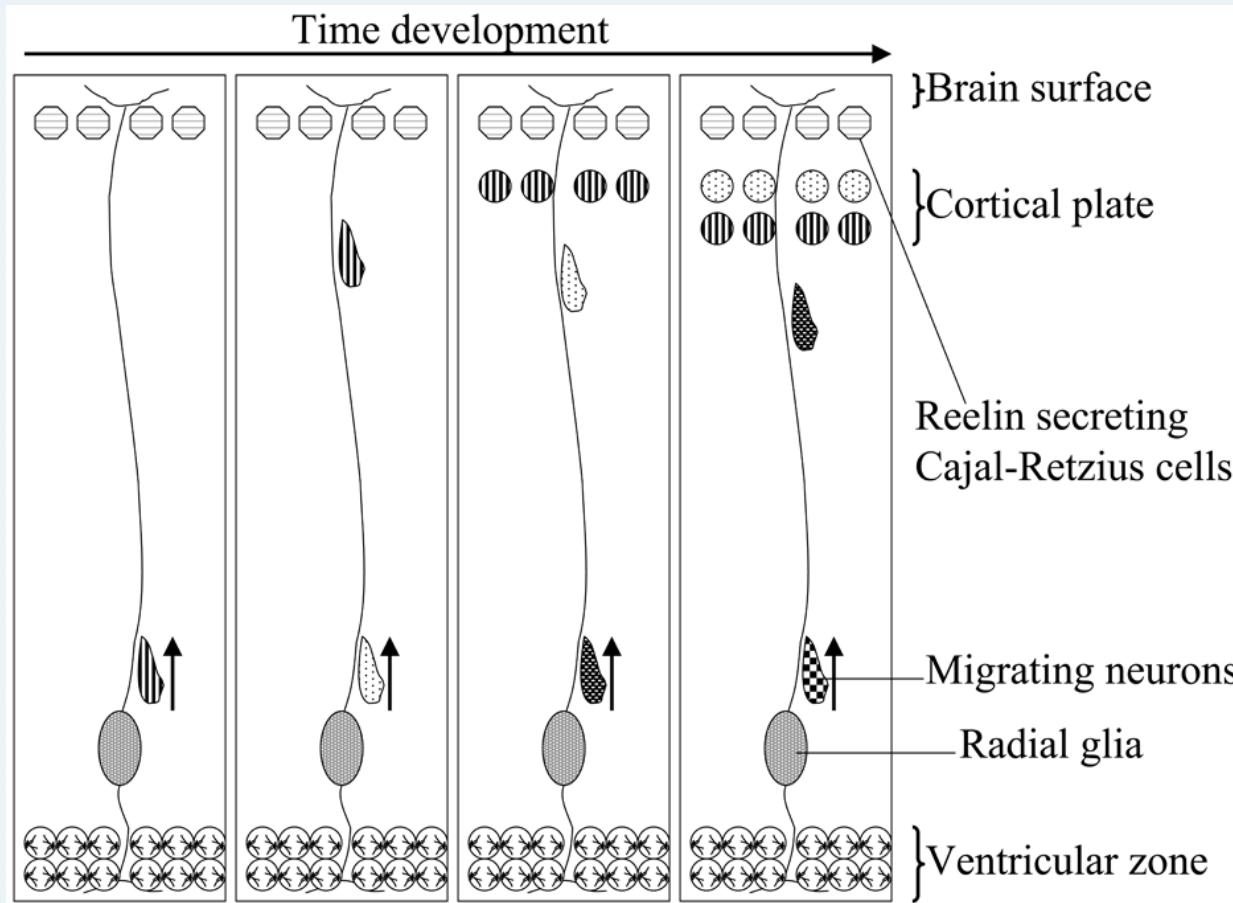
- **Радиальная глия**

играет роль в миграции нейронов при развитии мозга

Радиальная глия



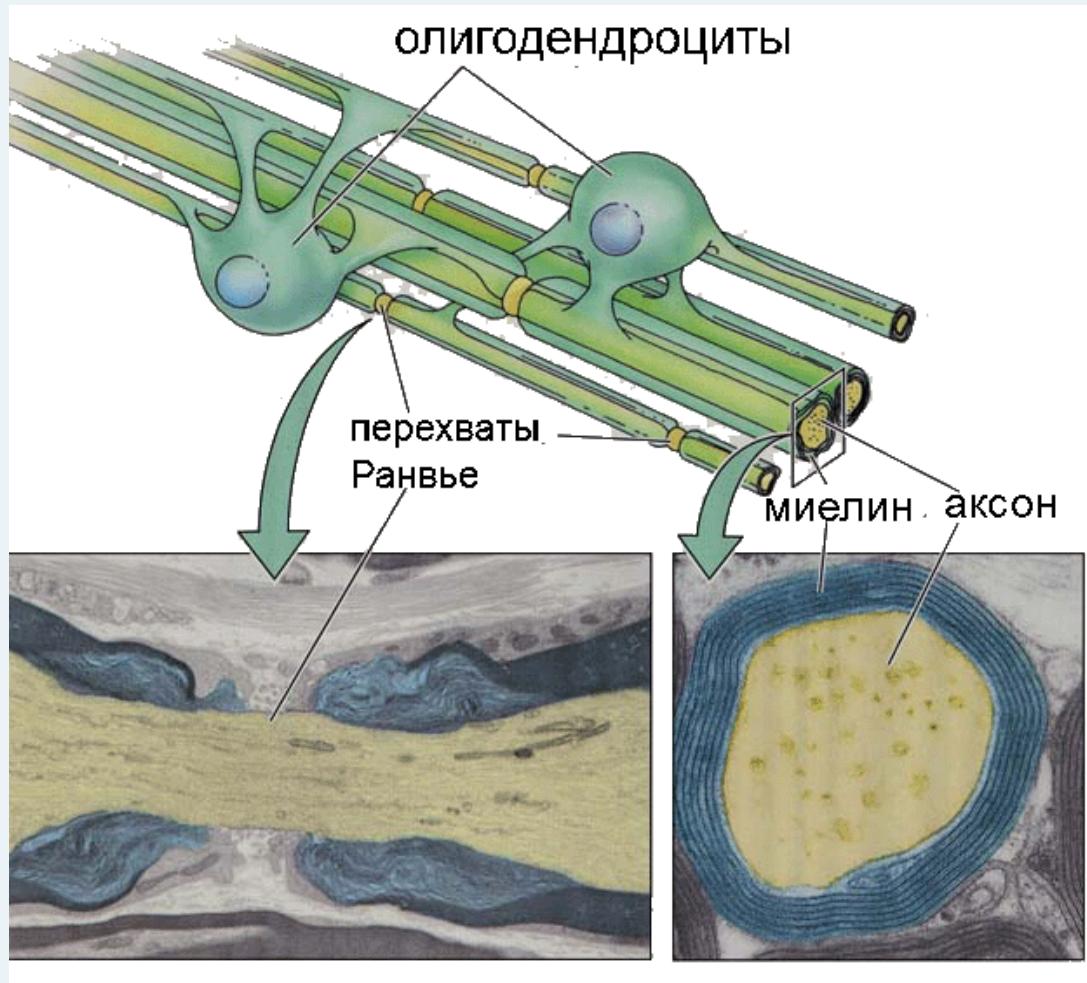
Радиальная глия: формирование слоев



Радиальная миграция – передвижение нейрональных прекурсоров из вентрикулярной зоны перпендикулярно поверхности мозга (по волокнам радиальной глии)

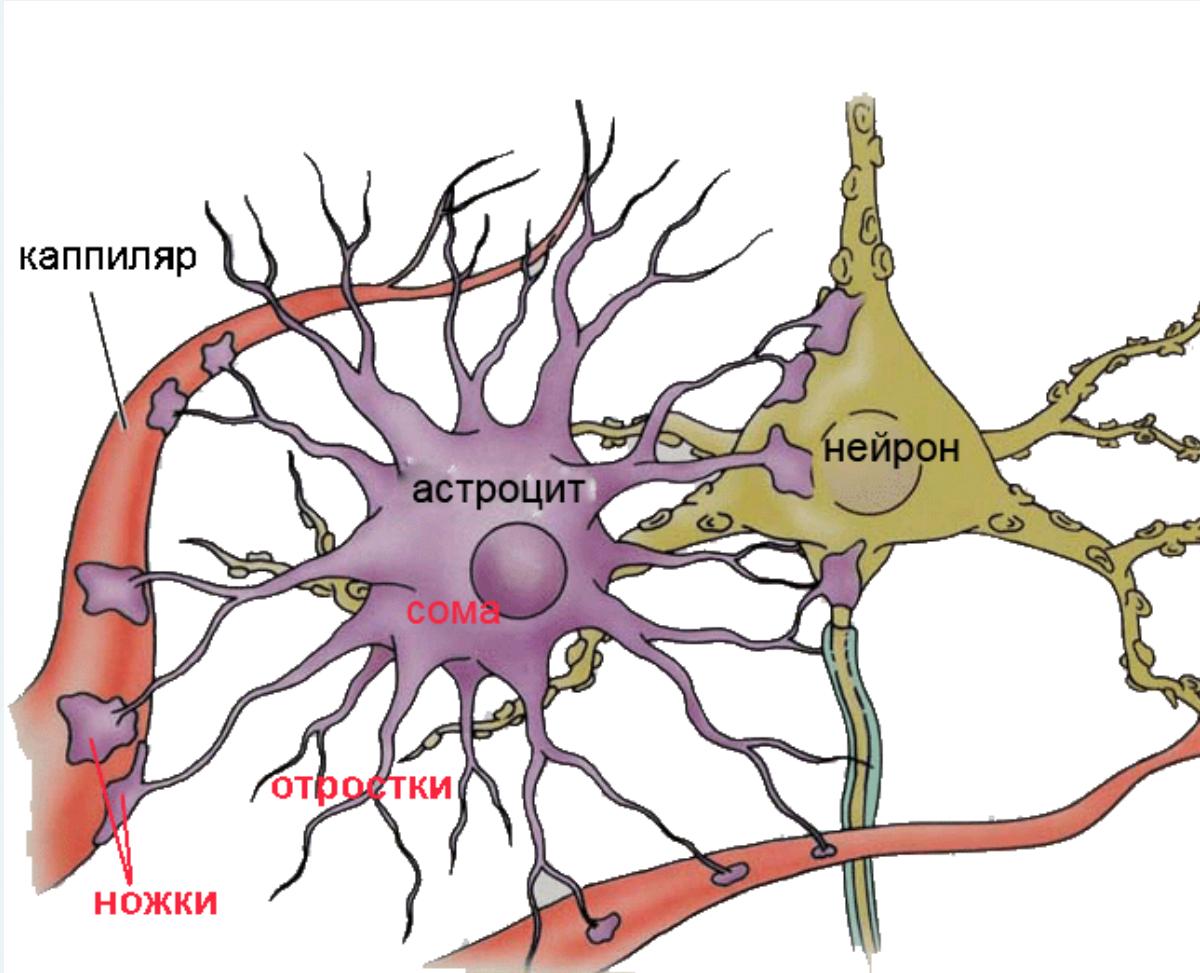
Тангентальная миграция – передвижение параллельно поверхности мозга

Олигодендроциты



Астроцит

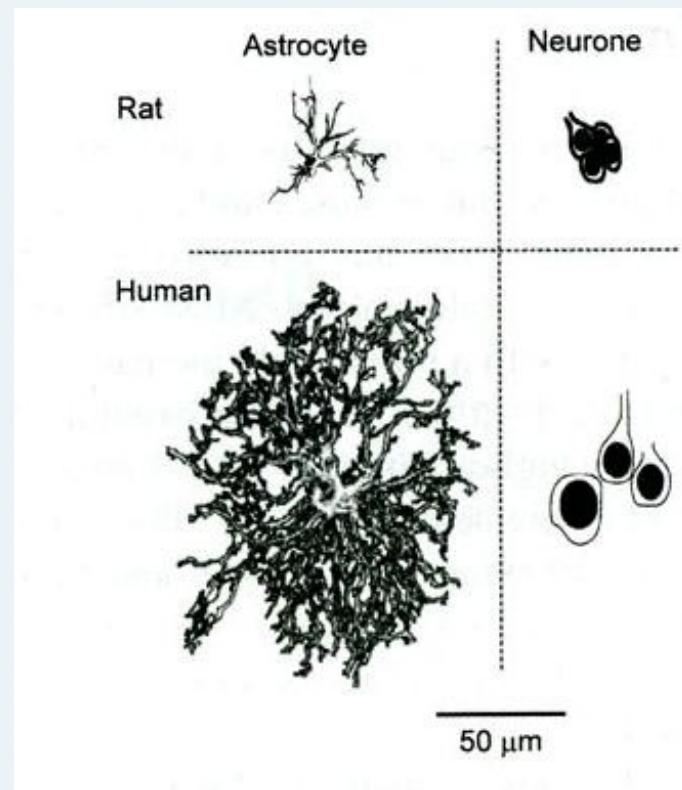
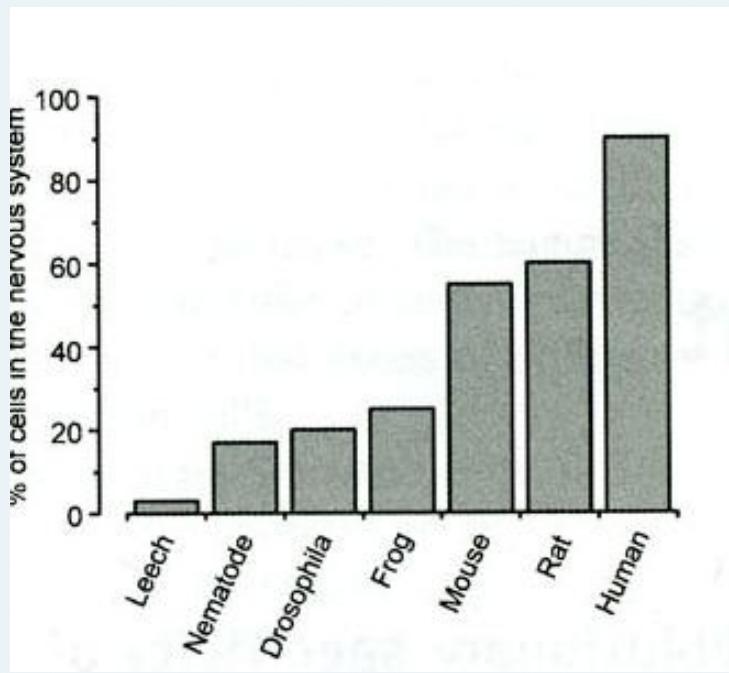
имеет тело, отростки и ножки



Функции

- Гомеостатическая (поддержание ионного и химического состава среды)
- Метаболическая (синтез и разложение веществ)
- Сигнальная (передача сигнала)
- Трофическая (влияние на рост и развитие нейронов)

Нейроны, глия и организация мозга



Мозг Энштейна – увеличение сложности отростков астроцитов

BRAIN RESEARCH REVIEWS 52 (2006) 257–263

 available at www.sciencedirect.com

 ScienceDirect

www.elsevier.com/locate/brainresrev

**BRAIN
RESEARCH
REVIEWS**

Review

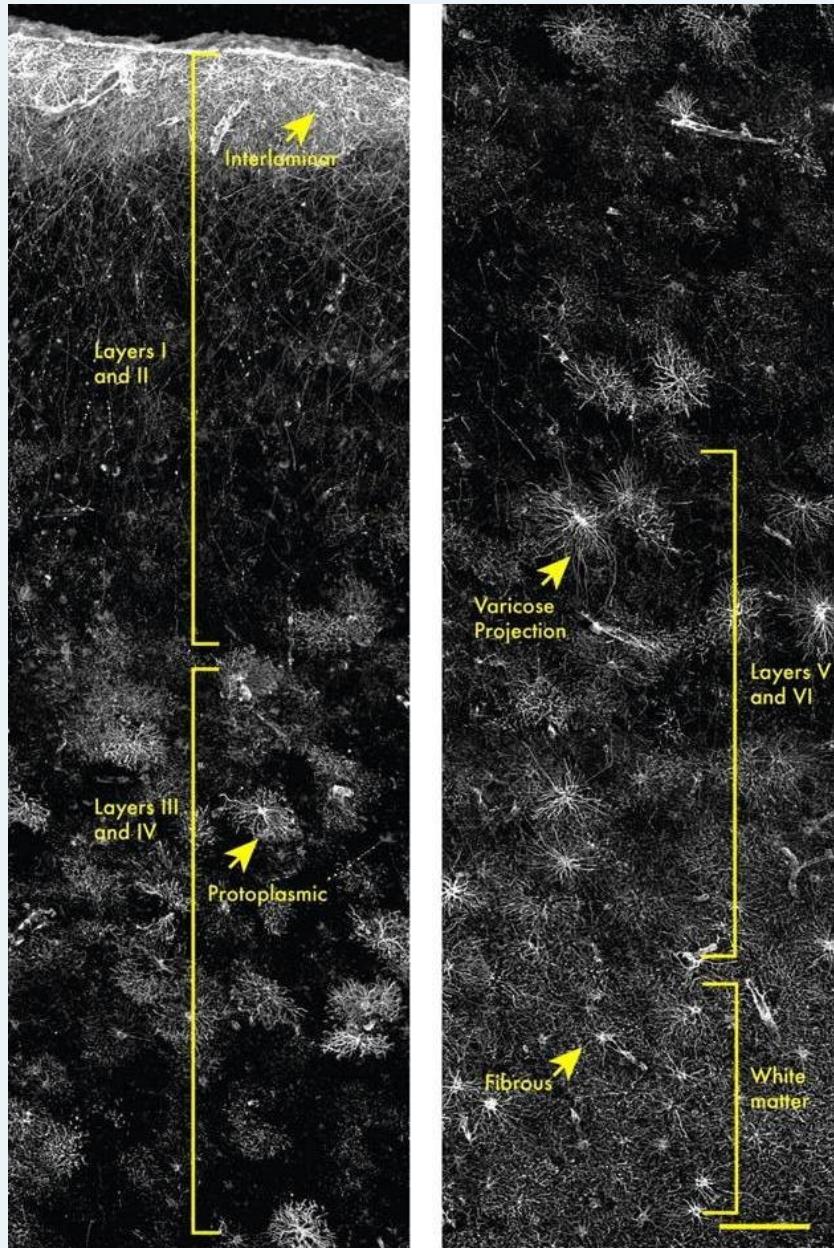
Cerebral cortex astroglia and the brain of a genius: A proposal of A. Einstein's

Jorge A. Colombo^{a,*}, Hernán D. Reisin^a, José J. Miguel-Hidalgo^b, Grazyna Rajkowska^b

^aUnidad de Neurobiología Aplicada (UNA) (CEMIC-CONICET), Av. Galván 4102, C1431FWO Ciudad de Buenos Aires, Argentina

^bDivision of Neurobiology and Behavior Research, Department of Psychiatry, University of Mississippi Medical Center, Jackson, MS 39216, USA

Типы астроцитов



- Фиброзные (в белом веществе)
- Протоплазматические
- Интрапламинарные
- Варикозные проекционные клетки

3276 • The Journal of Neuroscience, March 11, 2009 • 29(10):3276–3287

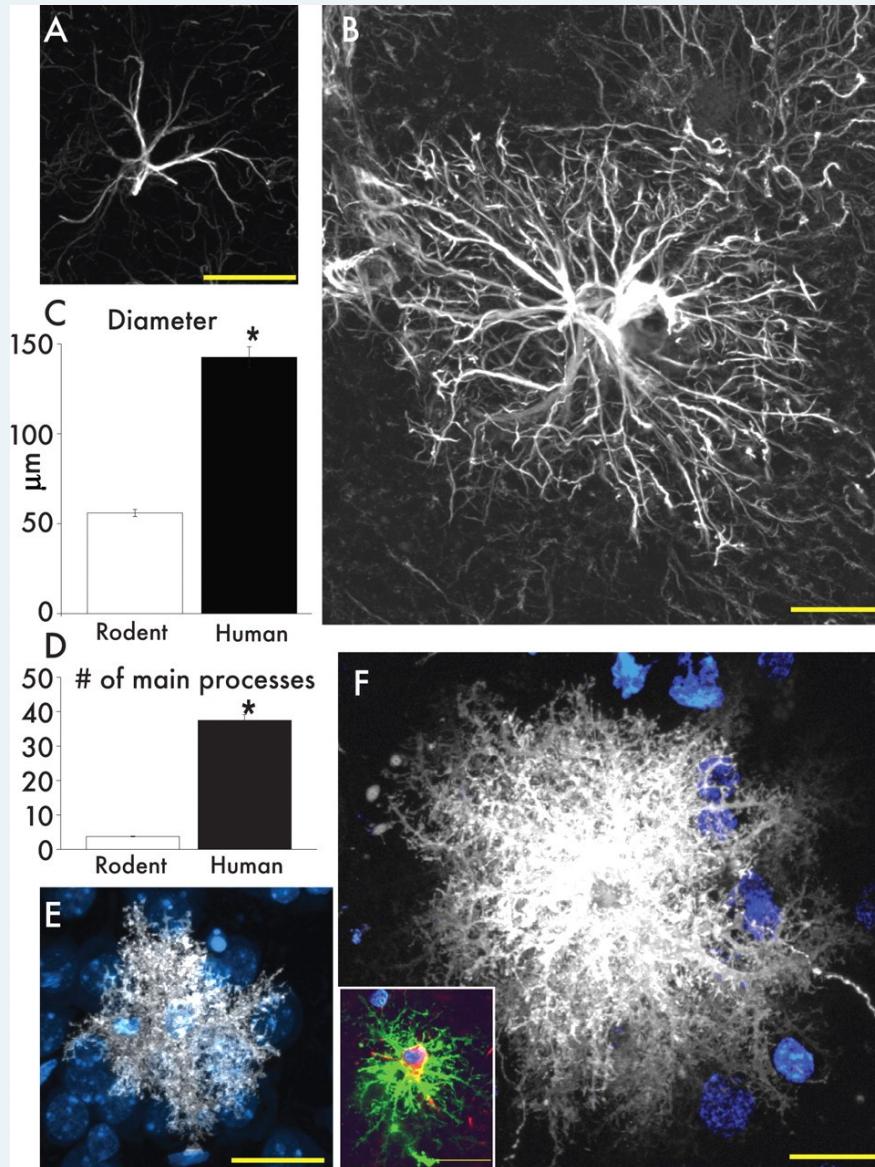
Cellular/Molecular

Uniquely Hominid Features of Adult Human Astrocytes

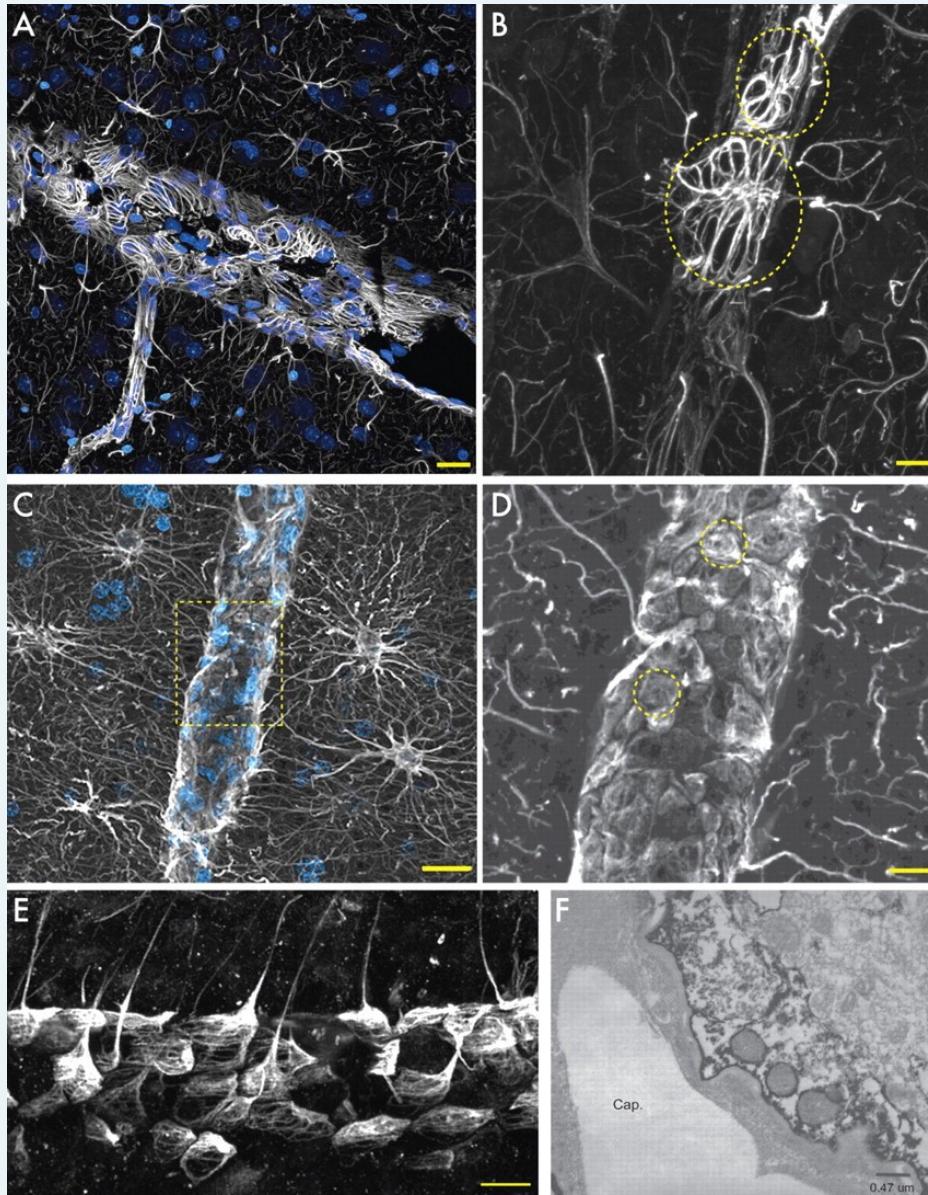
Nancy Ann Oberheim,^{1,5} Takahiro Takano,¹ Xiaoning Han,¹ Wei He,¹ Jane H. C. Lin,² Fushun Wang,¹ Qiuwu Xu,¹ Jeffrey D. Wyatt,³ Webster Pilcher,¹ Jeffrey G. Ojemann,⁴ Bruce R. Ransom,⁵ Steven A. Goldman,¹ and Maiken Nedergaard¹

¹Center for Translational Neuromedicine, Departments of Neurology and Neurosurgery, University of Rochester Medical Center, Rochester, New York 14642, ²Department of Pathology, New York Medical College, Valhalla, New York 10595, ³Department of Comparative Medicine, University of Rochester, Rochester, New York 14642, and Departments of ⁴Neurosurgery and ⁵Neurology, University of Washington, Seattle, Washington 98195

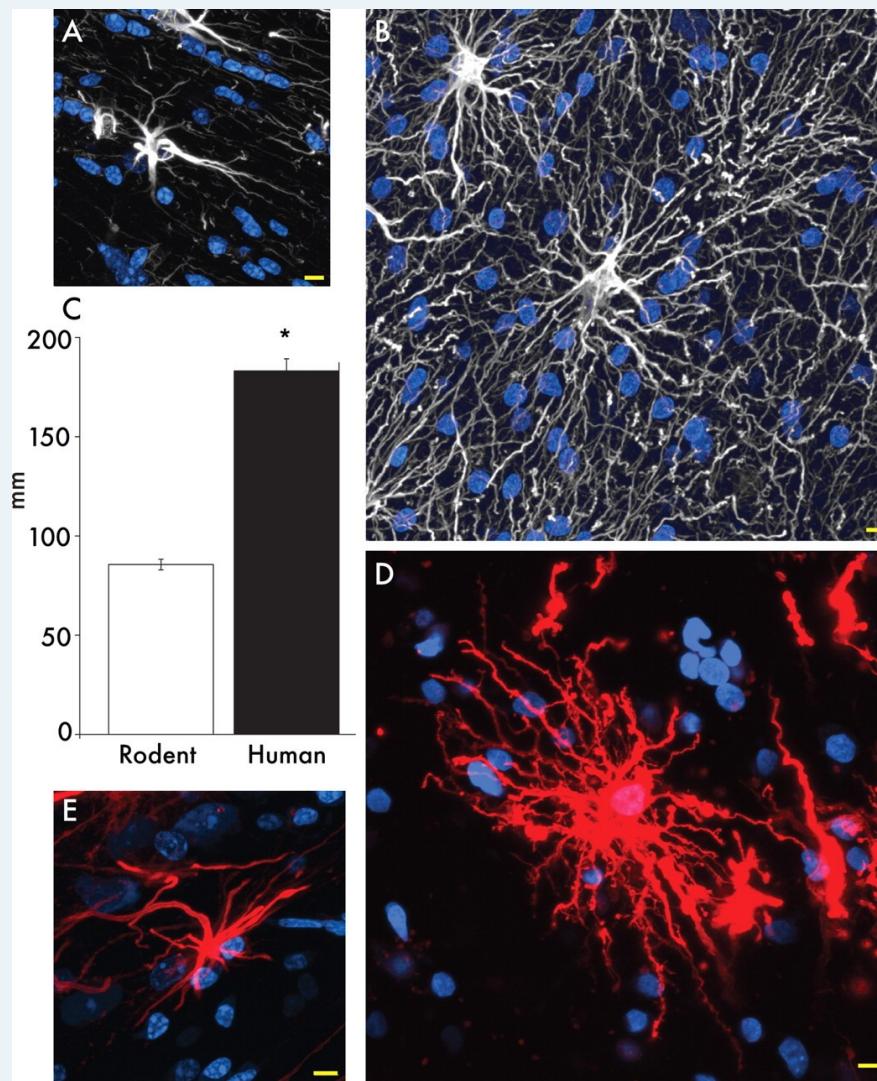
Протоплазматические астроциты



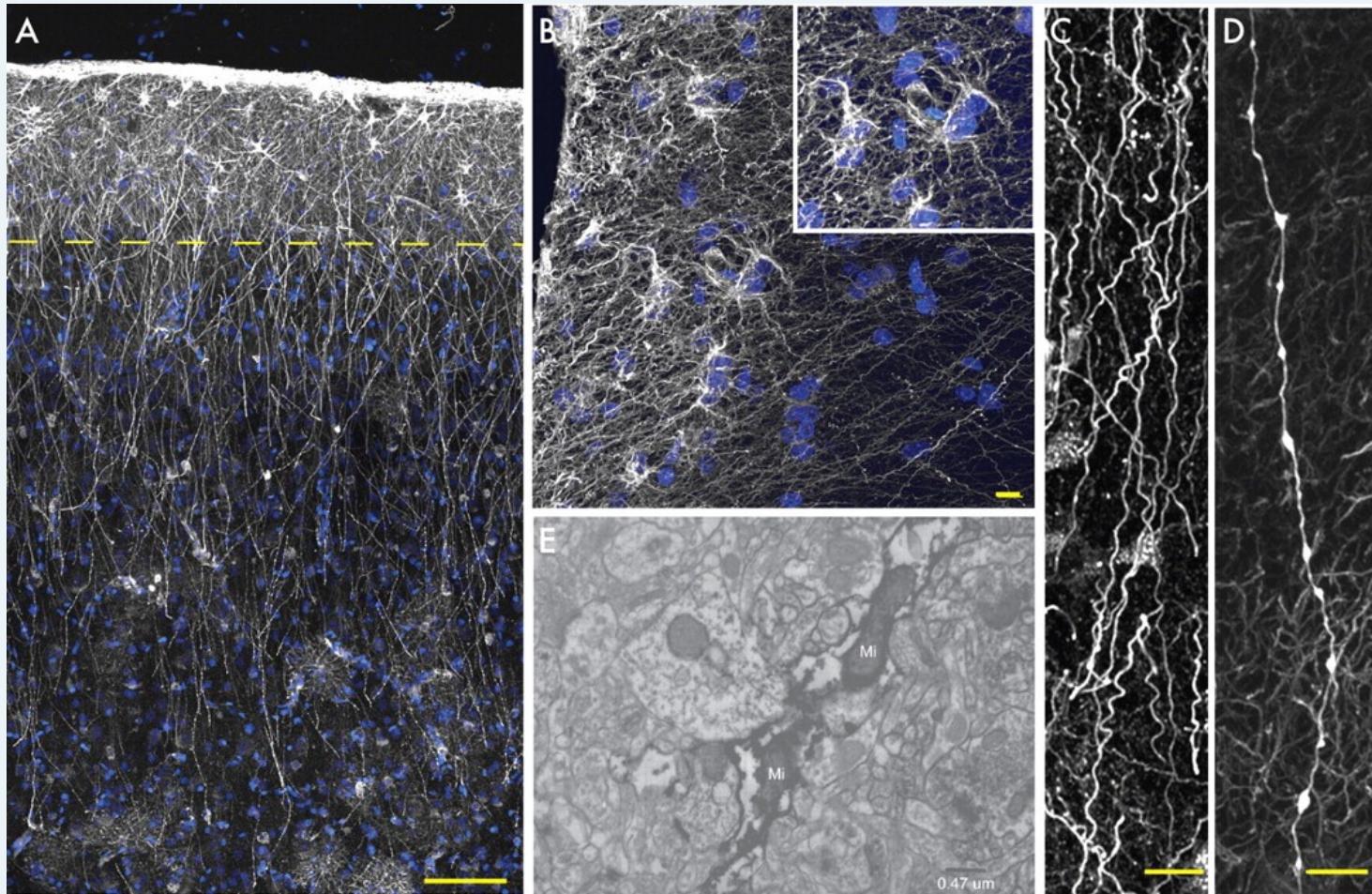
Протоплазматические астроциты и сосуды



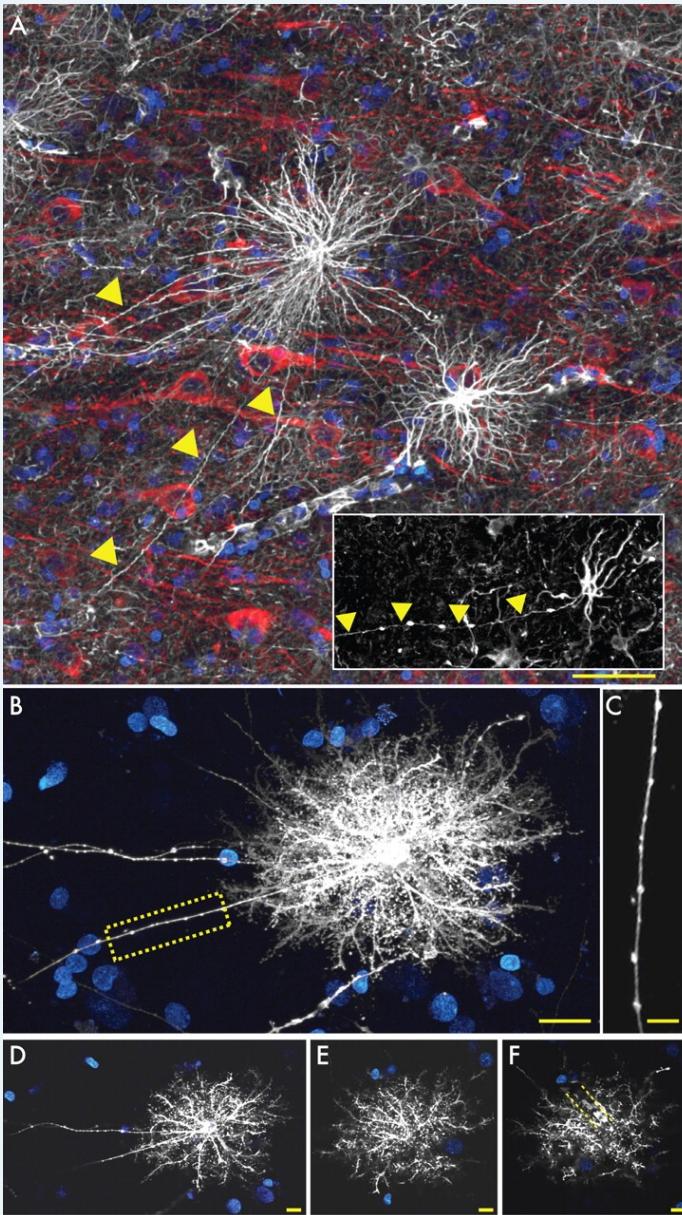
Фиброзные астроциты



Интраламинарные астроциты



Варикозные проекционные астроциты



1.3 Передача сигналов в мозге

Основные типы взаимодействия между клетками мозга

Типы сигналов

- Электрический сигнал (потенциал действия, постсинаптический потенциал)
- Химический сигнал (изменения ионного состава, нейропередатчики, нейромодуляторы)

Типы передачи сигнала

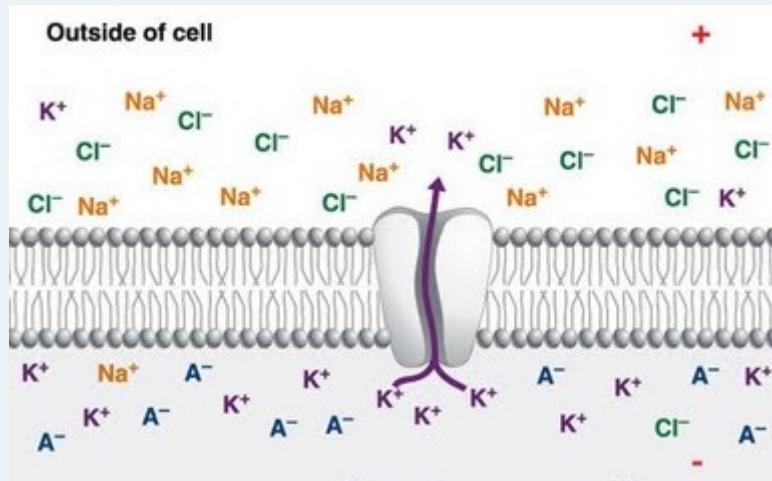
- электрические взаимодействия (эфапсы – неспециализированные контакты, гап-контакты – электрические синапсы)
- химические синапсы
- диффузные внесинаптические взаимодействия

Особенности функционирования глиальных клеток (отсутствие потенциалов действия)

Ионные градиенты и Потенциал покоя

Ионные градиенты определяются

1. Проводимостями
(рецепторы, каналы)
 2. Транспортерами
(АТФазы)



Уравнение Гольдмана – Ходжкина - Каца

$$E_m = \frac{RT}{F} \ln \left(\frac{P_{Na^+}[Na^+]_o + P_{K^+}[K^+]_o + P_{Cl^-}[Cl^-]_i}{P_{Na^+}[Na^+]_i + P_{K^+}[K^+]_i + P_{Cl^-}[Cl^-]_o} \right)$$

R- универсальная газовая постоянная
F- константа Фарадея
P- относительные проводимости ионов

Потенциалы и токи

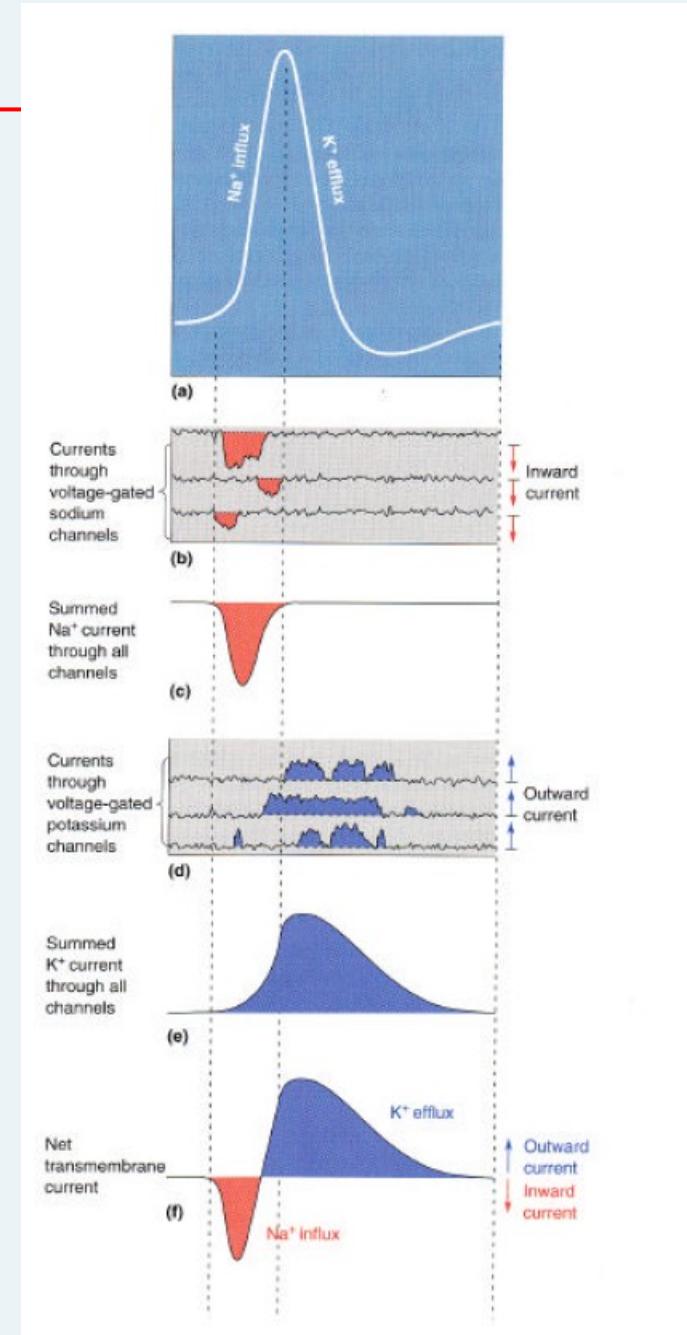
Потенциал действия состоит из 2 фаз

- Фаза подъема потенциала
 - открытие потенциал-зависимых Na^+ каналов
 - входящий Na^+ ток
- Фаза падения потенциала
 - открытие потенциал-зависимых K^+ каналов
 - выходящий K^+ ток

Суммарный ток – ток действия

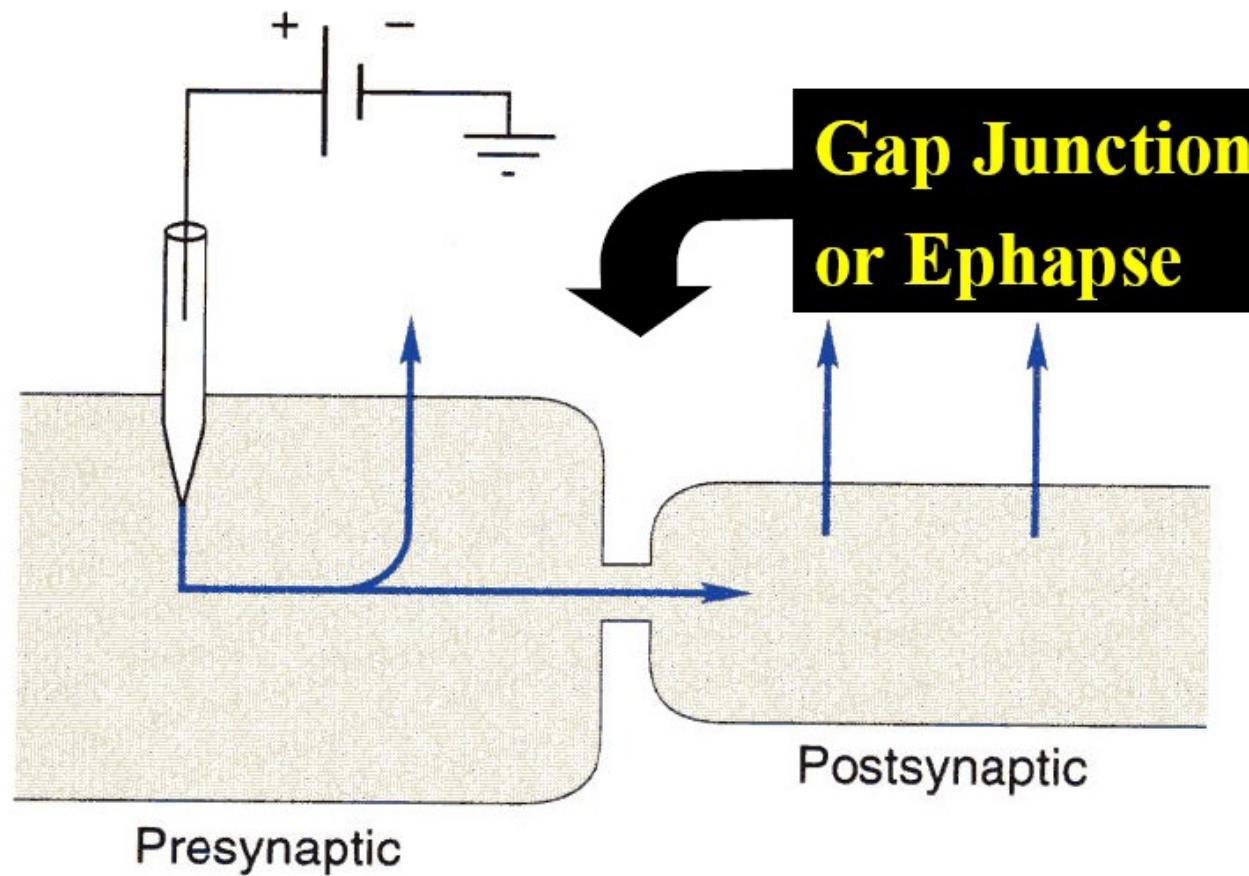
Ионные токи можно сопоставить любым изменениям потенциала мембранны:

Постсинаптический потенциал –
постсинаптический ток

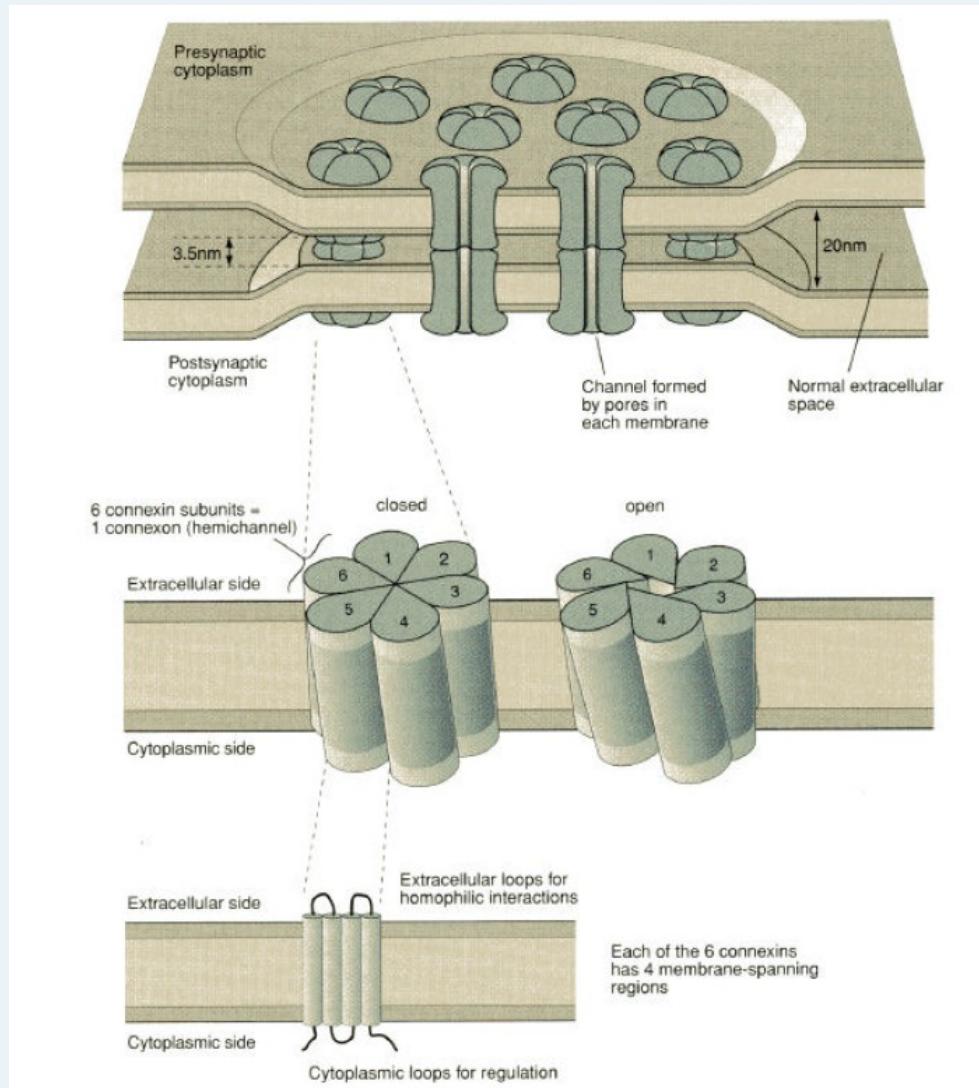


Электрические синапсы

Current flow at electrical synapses



Структура Гап-контакта



Электрические синапсы

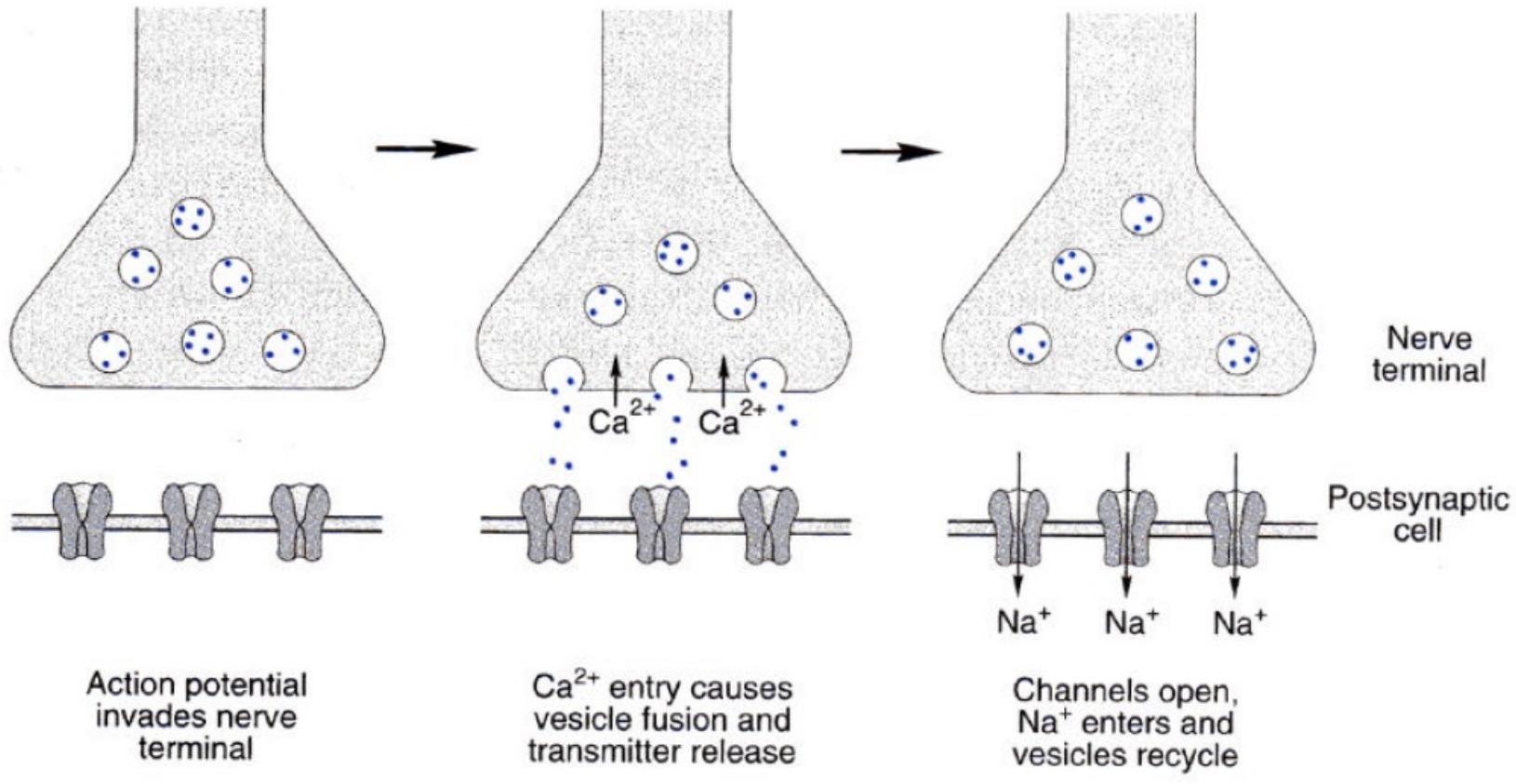
- Очень быстрые
- Передают сигнал в обоих направлениях
- Синхронизируют популяции клеток
- Могут управляться
- У млекопитающих распространены в нейронах развивающегося мозга и в меньшей степени во взрослом мозге
- Гап-контакты принципиальный тип взаимодействия между астроцитами благодаря их ионной проводимости

Открытие химических синапсов

1890-е годы	Чарльз Шеррингтон предложил термин “синапс” для обозначения соединения между нейронами. Синапс, исходно synaptein, происходит от греческих слов “syn-” означающего “вместе” и “haptein” означающего “прикреплять”
1914 год	Генри Дейл с коллегами идентифицировали ацетилхолин как возможный нейропередатчик. В 1921 году Отто Леви подтвердил экспериментально передачу посредством ацетилхолина
1940-е годы	активные дебаты являются ли синапсы химическими (Дейл) или электрическими (Джон Экклс)
Настоящее время	большинство синапсов химические, хотя электрические синапсы играют важную роль

Основной принцип синаптической передачи

Приход
потенциала действия
в аксональную терминал → Вход кальция и
высвобождение
химического передатчика → Открытие лиганд-зависимых
ионных каналов (рецепторов)

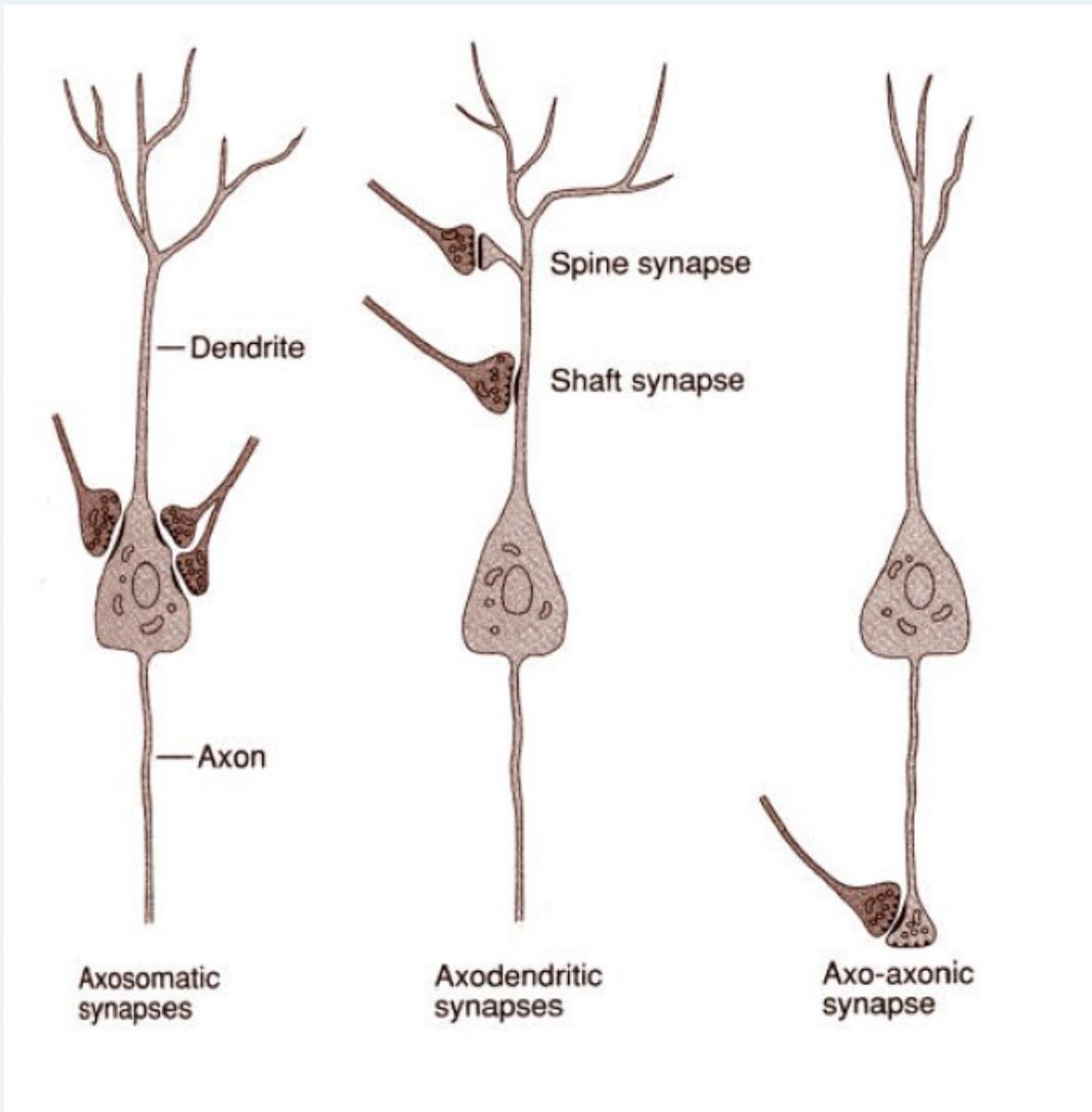


Везикулярное высвобождение нейропередатчика в ответ на пресинаптический ПД. Конвертация химического сигнала в электрический в постсинапсе.

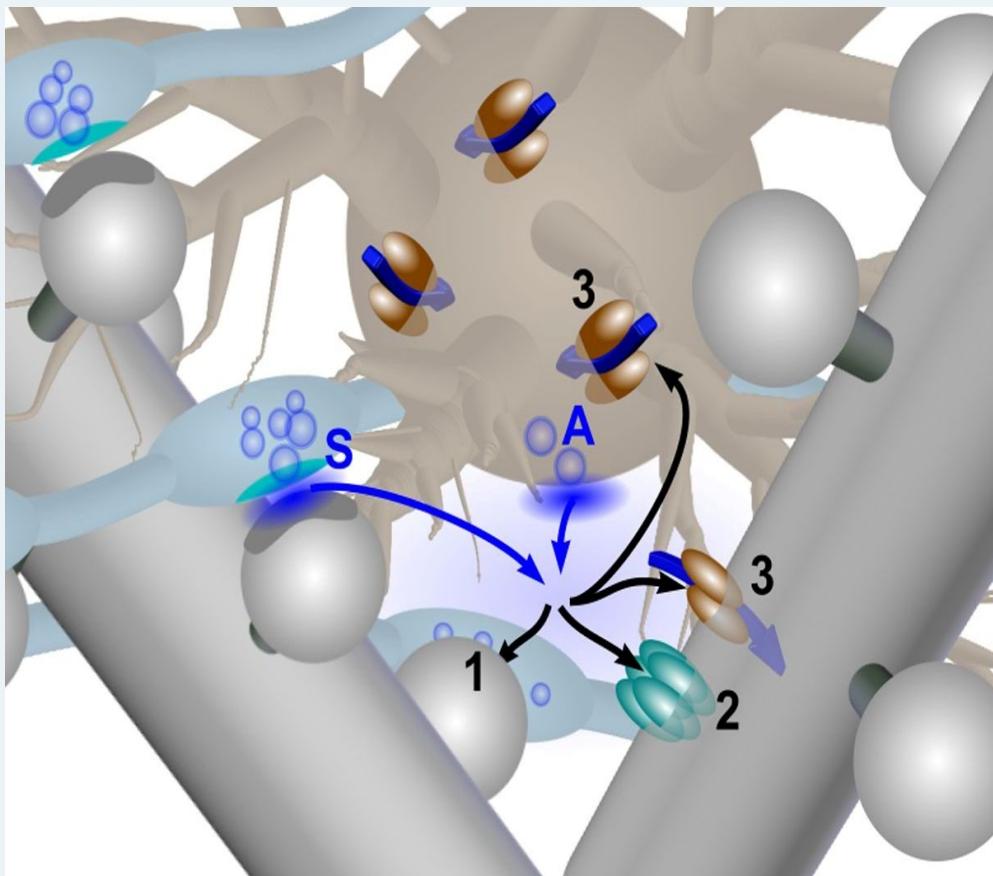
Химические синапсы

- Требуют высвобождение и диффузию нейропередатчика
- Однонаправленные
- Пре- и постсинаптические ионные токи
- Синаптическая задержка (1-5 мс)
- Могут быть возбуждающими и тормозными
- Синаптическое усиление/ослабление сигнала
- Пластичность (потенциация/депрессия)

Типы синаптических контактов



Диффузная внесинаптическая передача сигнала



S - spill out

A - astrocytic release

1 - spill in

2 - activation of extrasynaptic receptors

3 - uptake

Источники диффузного передатчика

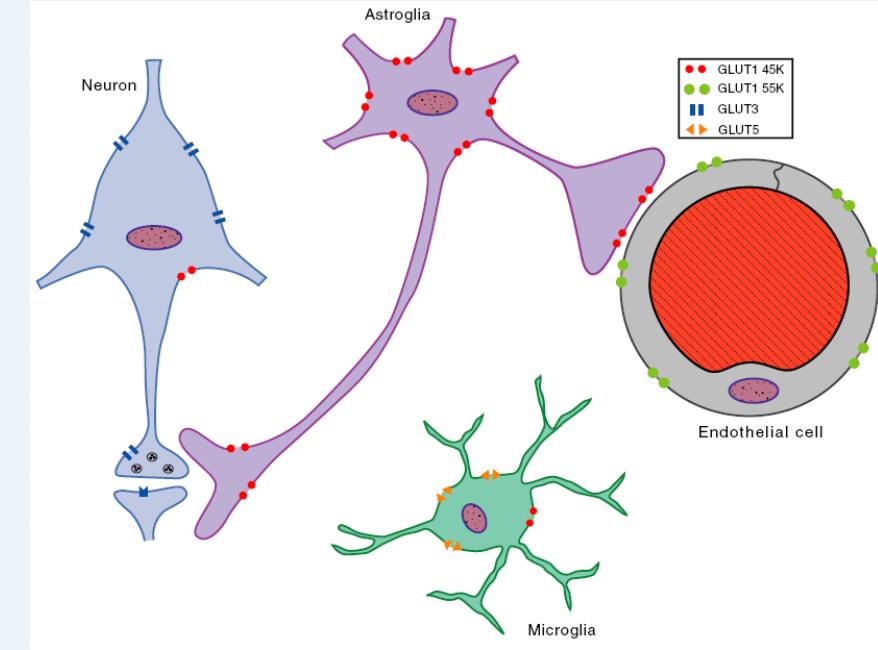
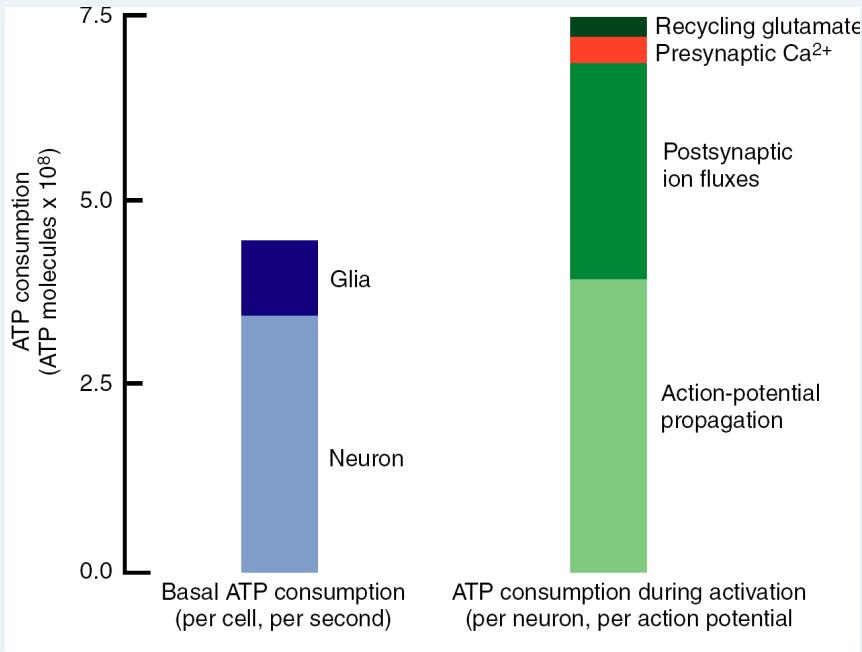
- Спиловер нейропередатчика (Дмитрий Кульман 1994)
- Высвобождение нейропередатчика глией

Мишени диффузного сигнала

- Внесинаптические рецепторы на нейронах и глии

1.4 Энергетический баланс и развитие мозга

Энергетический баланс мозга



Мозг составляет 2% от веса тела, а потребляет 25% всей энергии
Энергия поступает в мозг в форме глюкозы и кислорода

Развитие мозга

Мозг это орган который находится в процессе развития в течении всего периода существования организма.

Стадии эмбрионального и постэмбрионального развития

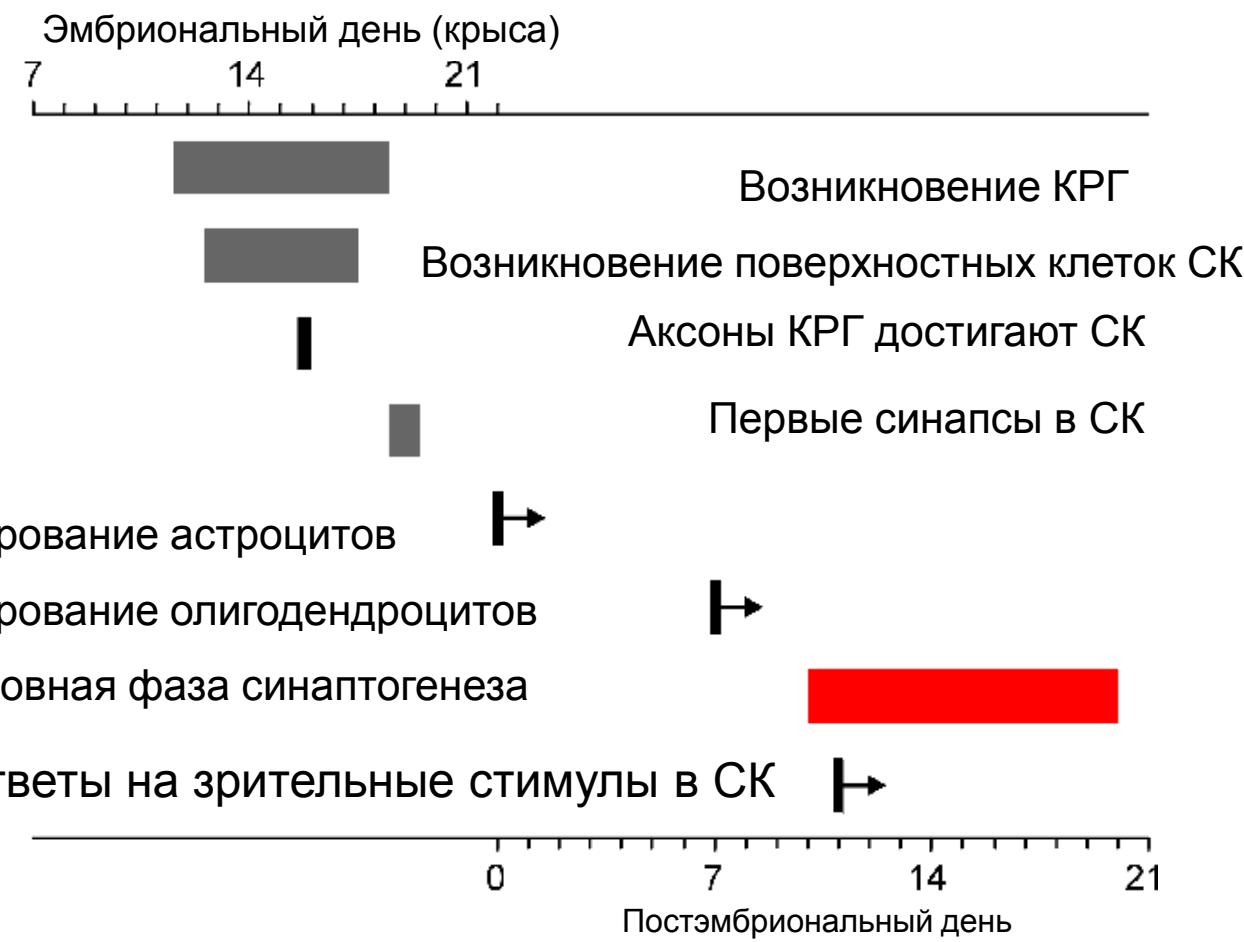
- миграция клеток
- формирование новых синапсов и их элиминирование
- изменения ионного (концентрация ионов хлора) и биохимического состава клеток (ферменты, например GAD65)
- миелинизация

Взрослый мозг

Нейроны обладают ограниченной способностью к делению (только в некоторых областях мозга), но способны к регенерации утраченных аксонов и дендритов. Новые синапсы возникают и исчезают постоянно.

Глиальные клетки – делятся (при повреждении мозга глиальные клетки заполняют пространство)

Стадии формирования клеток и синапсов

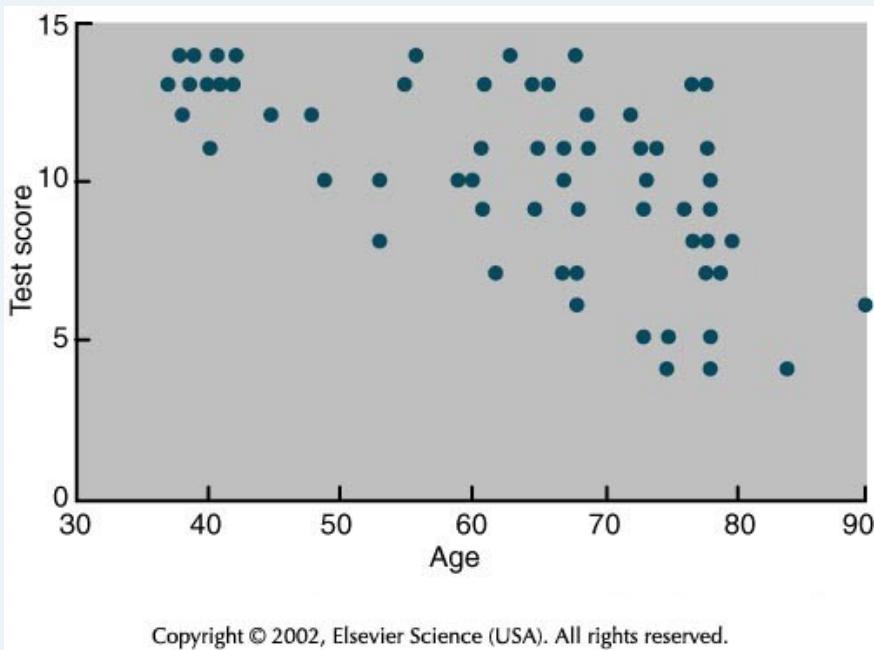


СК – сенсорная кора

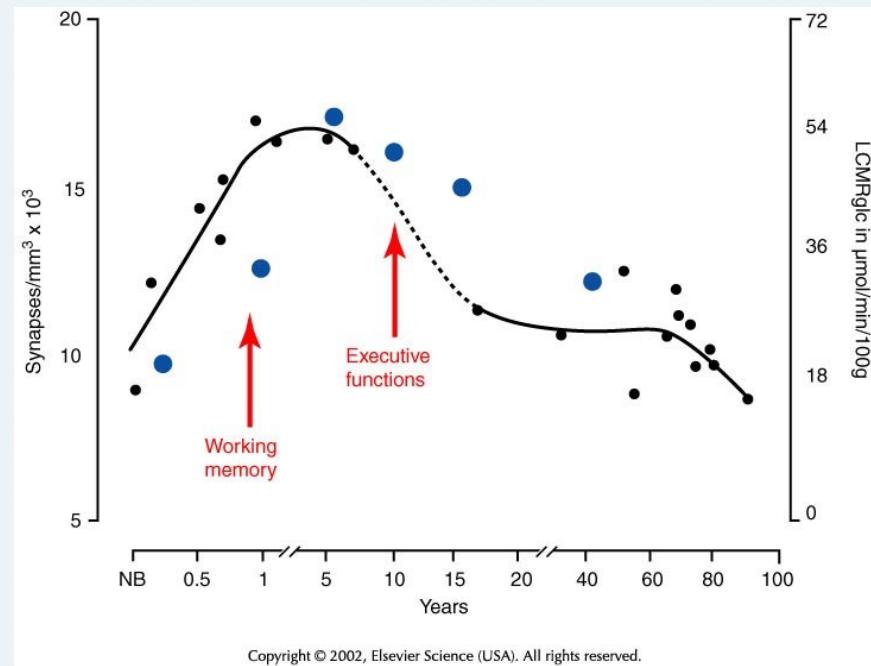
КРГ – клетки ретинального ганглия

Возрастные изменения в функциях мозга

Тест памяти



(высокая вариабельность у пожилых)



Плотность синапсов в слое III
медиальной фронтальной извилины
(черные кружки) и уровень потребления
глюкозы во фронтальной коре (голубые
кружки)