

**ВЗАИМОЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ  
БЛИЗКОРАСПОЛОЖЕННЫХ НЕЙРОНОВ КОРЫ МОЗГА КОШКИ  
В УСЛОВИЯХ МЕДЛЕННОВОЛНОВОГО СНА**

© Н. Г. Бибиков,<sup>1</sup> И. Н. Пигарев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> АО Акустический институт им. акад. Н. Н. Андреева,  
Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт проблем передачи информации им. А. А. Харкевича РАН,  
Москва, Россия  
E-mail: pigarev@iitp.ru

Анализировали функции взаимной корреляции фоновой импульсной активности у 184 пар близкорасположенных нейронов коры кошки в состоянии медленноволнового сна. Регистрацию осуществляли в ассоциативных зонах зрительно-соматосенсорной коры. Выделение одиночных элементов производили программой Spike-2. Примерно в половине случаев достоверной взаимозависимости выявлено не было. Среди 93 пар с выявленной взаимозависимостью 66 характеризовались широким (80—800 мс) максимумом корреляционной функции, центрированным вблизи нулевой задержки. В 16 из этих пар наряду с широким максимумом наблюдали и узкий (<50 мс), также центрированный вблизи нуля. У 14 пар присутствовал только узкий максимум, а оставшиеся 13 пар отличались или инверсией взаимозависимости или (и) резким смещением положения максимума корреляционной функции. Взаимосвязь наблюдали с большей вероятностью для пар клеток, проявляющих пачечный характер фоновой активности. Взаимосвязи одиночных нейронов в состоянии медленноволнового сна существенно не отличаются от тех, которые были описаны ранее для состояния бодрствования.

*Ключевые слова:* кора, кошка, сон, межнейронная корреляция, фоновая активность нейронов.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 1. С. 53—67. 2018

*N. G. Bibikov,<sup>1</sup> I. N. Pigarev.<sup>2</sup> INTERCORRELATION OF THE BACKGROUND ACTIVITY BETWEEN NEARBY NEURONS IN THE CAT'S CEREBRAL CORTEX DURING SLOW-WAVE SLEEP.* <sup>1</sup>JSC Andreev Acoustical Institute, Russia, Moscow; <sup>2</sup>Institute for Information Transmission Problems (Kharkevich Institute), Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, e-mail: pigarev@iitp.ru.

We analyzed cross-correlation functions of the background spike activity of 184 pairs of nearby neurons in the cat's cortex during slow-wave sleep. Multiunit activity was recorded in frontoparietal areas by differential microelectrodes with distance between their tips of 0.3mm and subsequent isolation of single cells by Spike2 program. The reliable interdependence of background activity was not found in about half of the units. Among the 93 pairs with identified interdependence 66 was characterized by the wide (80—800 ms) maximum of the correlation function, centered near zero delay. In 16 of these pairs, along with the wide maximum there was a pronounced

narrow (<50ms) maximum, well centered near zero. 14 pairs demonstrated only this narrow peak, and the remaining 13 pairs reveal an inverse of the interdependence or (and) a sharp temporal shift of the maximum. A clear correlation of the background firing was observed preferably for pairs of cells, which demonstrated evident bursting in their background firing. It is emphasized that the interrelationship of single neurons during slow-wave sleep qualitatively does not differ from that in wakefulness.

*Key words:* cortex, cat, sleep, interneuronal correlation, background activity.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 1. P. 53—67. 2018

В настоящее время становится совершенно очевидно, что функционирование головного мозга определяется прежде всего путем активного взаимодействия нейронных элементов. Особенности этого взаимодействия при разных состояниях животного исследуются как методами электроэнцефалографии, так и путем анализа корреляционных связей между отдельными клетками. Вопрос о взаимозависимости нейрональной активности близкорасположенных нейронов коры давно привлекает внимание большого числа как отечественных [2, 3, 8, 11], так и зарубежных [16, 18–21] исследователей. В последние годы достигнут значительный прогресс в прослеживании взаимосвязей нейронных элементов различных зон коры и подкорковых образований, в том числе с помощью таких эффективных методик, как использование потенциал-зависимых флуоресцентных красителей на прозрачном мозге [29]. Однако следует заметить, что подавляющее большинство работ было осуществлено либо *in vitro*, либо на наркотизированных животных. Меньшее внимание уделялось исследованию этого вопроса в состоянии бодрствования и совсем немного работ, касающихся взаимосвязи корковых нейронов при естественном сне [14, 30, 41]. Наиболее признанная точка зрения, касающаяся особенностей взаимодействия корковых нейронов во сне, состоит в том, что в этом состоянии ослабляются прямые связи между клетками и усиливаются связи, характеризующиеся как общий вход.

Мы поставили своей задачей провести более подробное изучение корреляционных связей импульсации внутри небольших групп близкорасположенных нейронных элементов ассоциативной коры спящей кошки. В данной работе исследовались взаимосвязи между нейронами, статистические характеристики фоновой активности которых были исследованы в наших предыдущих работах [1, 7]. Это позволило связать особенности их взаимодействия с выявленными ранее характеристиками фоновой импульсации.

## МЕТОДИКА

Работа проведена на двух кошках с использованием модифицированного метода безболезненной фиксации головы [5]. Детали процедуры были подробно описаны ранее [36, 37] и будут представлены коротко.

*Хирургическая операция и регистрация импульсной активности.* Под глубоким наркозом (ксилазин, золетил, внутривенно) кошку помещали в стереотаксический аппарат. Поверхность головы освобождали от мягких тканей и в череп по периметру ввинчивали маленькие шурупы. Шурупы соединяли между собой тонкой проволокой, создающей рамку вокруг центральной части черепа. Рамку, шурупы и поверхность черепа внутри рамки покрывали тонким слоем акриловой пластмассы. Рамка была использована для фиксации головы животного в ходе экспериментов. На рамку переносили стереотаксические ориентиры для последующих погружений микроэлектродов. Для выбора мест погружения использовали стереотаксический атлас [38].

Погружения проводили в участки коры, находящиеся в пределах 1 мм от точек с координатами AP+16 и латеральностью 8 мм как в правом, так и левом полушарии. Эти зоны в исследованиях В. Н. Черниговского с сотрудниками [10],

выполненных на кошках под глубоким наркозом, соответствовали фокусам проекций чревного нерва. Авторы отмечали, что корковые ответы на стимуляцию нерва лучше всего были видны при глубоком наркозе и уменьшались по мере снижения его уровня. Позже в экспериментах на бодрствующих животных без применения наркоза висцеральные ответы в этих участках коры обнаружить не удалось. Сейчас эти участки коры рассматривают как ассоциативные зоны зрительно-соматосенсорной коры.

В настоящем исследовании многие нейроны в этой области в бодрствовании действительно отвечали на зрительную стимуляцию и на движения передних лап. Детального исследования свойств рецептивных полей этих нейронов мы не проводили.

Нейронную активность регистрировали биполярно двумя вольфрамовыми микроэлектродами в лаковой изоляции (1—2 МОм на частоте 1 кГц). Расстояние между кончиками микроэлектродов было порядка 300 мкм. Микроэлектроды через две предусилительные головки соединяли с симметричным входом усилителя Neurobiolab (полоса пропускания от 0.3 Гц до 2 кГц). Частота оцифровки 10 кГц. Такая форма записи позволяла одновременно регистрировать импульсную активность двух групп нейронов, расположенных вблизи от каждого из кончиков микроэлектродов. Кроме того, такое отведение позволяло записывать и локальные медленные потенциалы (local field potentials, локальную ЭЭГ). Электроды погружали в мозг через конические пластиковые трубочки, вставленные в отверстия в черепе (2 мм), просверленные над зоной погружения. Трубки прикрепляли к основной рамке акриловой пластмассой. Микроэлектроды перемещали портативным механическим микроманипулятором, также прикрепленным к рамке. При использовании этой методики микроэлектроды могли находиться в мозге неограниченно долгое время. В интервалах между опытами рамку закрывали защитным шлемом.

Локальную ЭЭГ в зоне регистрации нейронов и общую ЭЭГ, регистрируемую между двумя макроэлектродами из тонкой нержавеющей стали (Elgiloy), имплантированными над лобной и теменной областями коры, использовали для оценки фаз цикла сон—бодрствование. Движения глаз и век животного регистрировали инфракрасным окулометром. Параллельно вели запись ритма дыхания и сердцебиения. Все параметры записывали на диск и анализировали off-line.

В работе следовали этическим принципам содержания и использования животных в нейрофизиологических исследованиях [43].

*Обработка импульсной активности.* На первом этапе обработки записи регистрируемый сигнал цифровыми фильтрами разделяли на импульсную активность и более медленные локальные потенциалы. Затем, используя программу Spike 2, импульсную активность, превышающую заданный порог, анализировали по форме спайков, и выделенные одиночные нейроны разносили по отдельным каналам. Стабильность отведения в процессе эксперимента постоянно контролировали по звуку импульсов и их виду на осциллографе.

Известно, что при такой методике регистрации и анализа можно со значительной долей уверенности выделить несколько одиночных клеток [34]. В данной работе мы одновременно регистрировали группы нейронов, включающие от 2 (2 случая) до 8 (тоже 2 случая) нейронов. В большей части опытов выделяли от 4 до 6 одновременно активных нейронов. Анализ проводили с попарными сочетаниями всех одновременно регистрируемых нейронов.

Последовательности моментов возникновения спайков в каждом нейроне из исследуемой пары фиксировали с шагом в 0.5 мс. Таким образом, после разделения нейронов по форме оцифровка осуществлялась с частотой 2000 Гц. Отсчет, в котором находился спайк, принимал единичное значение, а остальные отсчеты являлись нулевыми. Гистограммы взаимно корреляционных функций (КФ) для каждой пары клеток получали прямым методом сдвига, перемножения, суммирования и последующего нормирования на длительность реализации. Мы не осу-

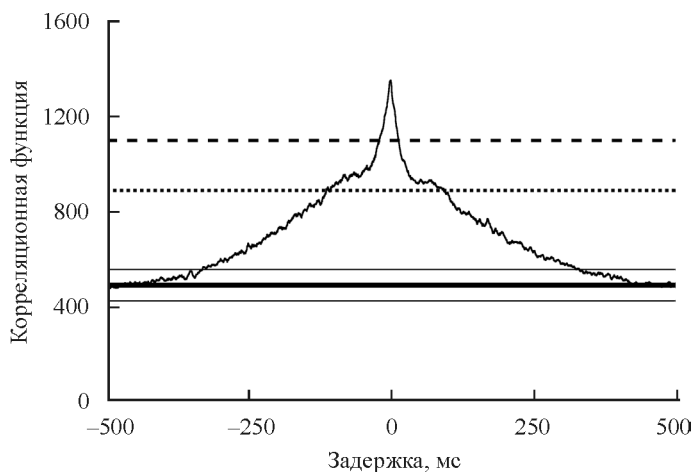


Рис. 1. Пример усредненной КФ для пары нейронов с выраженным взаимодействием.

По оси абсцисс — задержка в мс, по оси ординат — ненормированные значения КФ. Сплошные горизонтальные линии соответствуют среднему значению КФ для пары пуассоновских процессов (жирная линия) и критерию выявления взаимодействия ( $\pm 3$  стандартных отклонения — тонкая линия). Пунктирная и штриховая линии проведены на уровне соответственно 50 и 75 % от интервала между средним значением КФ для пары пуассоновских процессов и максимумом функции.

щественно осуществляли нормировку по частоте следования импульсов, чтобы на иллюстрациях сохранялась информация об этом параметре. Процедуру осуществляли в интервале сдвигов от  $-500$  до  $+500$  мс, используя созданную в лаборатории программу.

Для оценки значимости отклонений зарегистрированной КФ определялось число случайных совпадений для пары двух независимых пуассоновских процессов с теми же средними частотами, какие наблюдались в исследуемой паре. Это ожидаемое число, показанное сплошной черной горизонтальной линией (рис. 1), в используемых координатах равно произведению общего числа спайков в двух исследованных процессах, деленному на общее число временных шагов в течение всего времени регистрации (длительность в с, умноженная на 2000) [13]. Во всех случаях мы контролировали совпадение крайних значений при максимальных сдвигах КФ, а также их близость к ожидаемому среднему значению КФ для двух независимых пуассоновских процессов. Стандартное отклонение этой величины равно квадратному корню из ее значения, а отличие от ожидаемого числа совпадений при обычно принимаемом критерии должно соответствовать 3 стандартным отклонениям (2 тонкие линии, расположенные симметрично вокруг черной линии на рис. 1).

Учитывая большое число точек КФ, простое требование отличия измеряемого значения КФ за пределы 3 стандартных отклонений от ожидаемого значения может оказаться излишне мягким. Поэтому мы осуществляли сглаживание функции по 10 отсчетам для подавления коротких случайных выбросов. При этом участки уже сглаженной функции, которые мы считали достоверно отличающимися от среднего, должны были иметь длительность не менее 10 мс (20 отсчетов).

В случае если на КФ обнаруживался участок достоверного отличия значений от ожидаемого случайного уровня, фоновая активность для данной пары клеток считалась взаимозависимой. При отсутствии такого участка активность 2 клеток предполагалась независимой.

Для пар клеток с выявленной взаимозависимостью импульсации количественно оценивали несколько численных параметров, характеризующих КФ.

Прежде всего, определяли значение временного смещения максимального текущего значения полученной сглаженной КФ относительно нулевого сдвига. Этот параметр позволял оценить, является ли взаимодействие нейронов симметричным или между ними существует временная задержка. Если величина этого сдвига была меньше 15 мс, мы расценивали взаимодействие как симметричное. Например, для пары, представленной на рис. 1, смещение максимума равнялось 1.5 мс. Затем определялось отношение максимума КФ, сглаженной по 10 отсчетам, к среднему значению КФ независимых пуассоновских процессов, способ вычисления которого был описан выше. Для пары, представленной на рис. 1, оно равнялось  $1343/488=2.75$ . Это отношение характеризовало выраженность взаимодействия.

Далее мы оценивали ширину максимума КФ на двух ее уровнях: 50 % расстояния от среднего значения КФ независимых процессов до наблюдаемого максимума (пунктирная линия на рис. 1), и 75 % от этого расстояния (штриховая линия на рис. 1), т. е. в непосредственной близости от максимума. Эти оценки использовались нами для классификации типа КФ взаимодействующих нейронов. Для иллюстрированного на рис. 1 нейрона указанные значения равнялись соответственно 208 мс и 38 мс. При сравнении количественных параметров использовались стандартные статистические методики, причем средние значения рассматривались как достоверно различные при критерии  $p < 0.01$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе были использованы данные, полученные в 14 точках регистрации. В каждой из этих точек было зарегистрировано от 2 до 8 клеток. Для анализа брали данные, полученные в одном непрерывном, обычно самом продолжительном, эпизоде медленноволнового сна. Всего было рассмотрено 184 пары одновременно зарегистрированных нейронов. Общие данные, характеризующие исследованный нами набор, приведены в табл. 1. Как видно из этой таблицы, исходя из выбранных критериев, у 91 пары мы не смогли выявить наличия взаимосвязи фоновой импульсной активности, а у 93 пар клеток такая связь явно прослеживалась. Таким образом, исходя из наших экспериментальных данных, можно сделать вывод, что в состоянии медленноволнового сна взаимосвязь близко расположенных клеток коры проявляется только немногим чаще, чем в половине случаев. При этом обращает на себя внимание крайняя вариабельность степени взаимосвязи клеток в разных точках регистрации (табл. 1). Например, в точке №5 ни одна из десяти пар для 5 зарегистрированных клеток не проявляла взаимозависимости спонтанной импульсации. В то же время в точках № 2 и № 9 число взаимодействующих пар превышало две трети, а в двух точках при регистрации соответственно 3 и 4 нейронов все пары оказались взаимодействующими.

80 пар клеток характеризовались наличием достоверного максимума КФ, центрированного вблизи нулевой задержки. У 13 пар отмечались иные особенности взаимокорреляционной функции. Нейроны с максимумом, центрированным вблизи нуля, были разделены на 3 подгруппы с использованием количественных параметров, определяющих ширину пиков КФ на разных уровнях. К 1-й подгруппе были отнесены пары, у которых КФ имела один достоверный и сравнительно плавный максимум, ширина которого на уровне 50 % (см. методику) была более 100 мс. Такой тип взаимодействия обычно характеризуется как наличие общего входа. Для 2-й подгруппы характерно было наличие более узкого (менее 100 мс) пика, но также с центром вблизи нулевой задержки. Хотя такое взаимодействие также можно интерпретировать как общий вход, оно может свидетельствовать и о непосредственной связи клеток, составляющих пару. Наконец, 3-я подгруппа отличалась наличием двух составляющих КФ: широкого и узкого максимумов. Для выделения этой подгруппы использовали следующий критерий:

Т а б л и ц а 1

Распределение пар нейронов в 14 зарегистрированных кластерах нейронов с указанием наличия и отсутствия взаимосвязи

Точки регистрации	Общее число клеток	Общее число пар	Число коррелированных пар	Коррелированные пары, %
№ 1	7	21	7	33.3
№ 2	7	21	15	71.4
№ 3	8	28	14	50.0
№ 4	5	10	6	60.0
№ 5	5	10	0	0.0
№ 6	5	10	4	40.0
№ 7	3	3	3	100.0
№ 8	4	6	6	100.0
№ 9	6	15	11	73.3
№ 10	6	15	5	33.3
№ 11	2	1	0	0.0
№ 12	2	1	0	0.0
№ 13	8	28	16	57.1
№ 14	6	15	6	40.0
Σ	74	184	93	50.5

рий: ширина максимума на уровне 50 % должна была составлять более 100 мс, но ширина максимума на уровне 75 % — не менее чем в пять раз меньше.

Примеры, иллюстрирующие КФ для 3 указанных типов взаимодействия, приведены на рис. 2. В верхнем ряду показаны КФ для пар, входящих в 1-й подтип. Пара, представленная на рис. 2, *А*, отличается сравнительно высокой частотой фоновой активности обеих клеток с ярко выраженным взаимодействием. На рис. 2, *Б* приведен пример КФ нейронов первого подтипа с невысокой частотой импульсации, но с выраженным взаимодействием. Рис. 2, *В* иллюстрирует довольно слабое взаимодействие, удовлетворяющее, однако, принятым нами количественным критериям.

КФ для пар, принадлежащих ко 2-му подтипу, приведены в среднем ряду рис. 2. Пары, представленные на рис. 2, *Г*, *Д*, при малой средней частоте импульсации демонстрирует высокую синхронность ответов, которая может свидетельствовать о прямой связи между клетками. На рис. 2, *Е* приведен пример КФ, которая в соответствии с выбранными критериями была отнесена ко 2-му типу, хотя у нее наряду с узким пиком удается заметить и более широкий максимум. Такая особенность проявлялась еще в нескольких случаях.

Пары клеток, КФ которых относились к 3-му типу, проявляют взаимодействие на довольно большом временном участке, но при этом их КФ обладает выраженным центральным пиком. Характерные примеры функций, принадлежащих к этому подтипу, приведены на рис. 2, *Ж*, *К*. К тому же подтипу принадлежит и КФ, представленная на рис. 1.

В результате анализа, осуществленного в соответствии с указанными выше критериями, к 1-му типу с одним широким максимумом было отнесено 50 исследованных пар клеток. 14 пар имели выраженный узкий максимум и были отнесены ко 2-му типу. По меньшей мере у 16 пар клеток присутствовал и широкий и узкий максимум функции корреляции, и они составили 3-й тип взаимодействия.

У 13 исследованных пар клеток с выраженным взаимодействием полученные КФ не могли быть отнесены ни к одному из трех выделенных подтипов, поскольку они характеризовались нетипичным поведением. У 5 из них вблизи нуле-



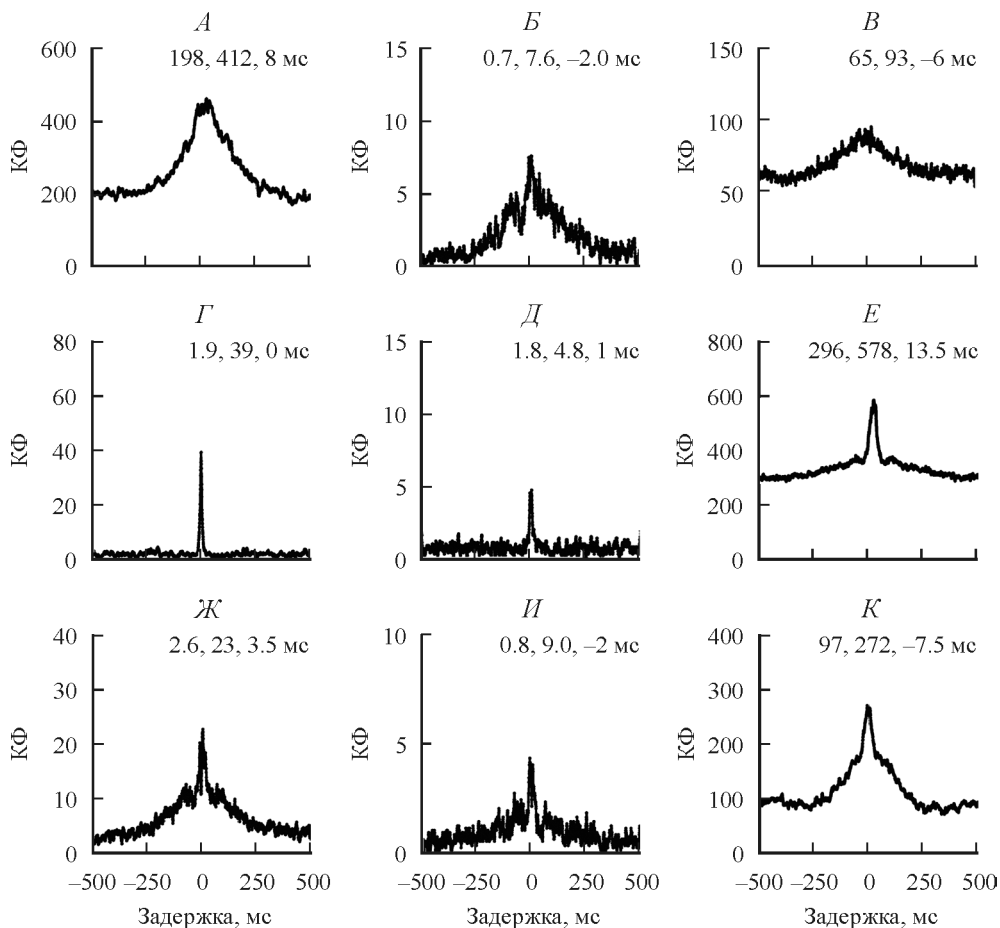


Рис. 2. Примеры КФ нейронов с разными подтипами взаимодействия.

Верхний ряд — первый подтип, средний ряд — второй, нижний ряд — третий подтип взаимодействия. По оси абсцисс — задержка в мс, по оси ординат — ненормированные значения КФ. Цифрами указаны средние значения КФ для пуассоновского процесса, экстремальные значения КФ, а также сдвиг экстремума относительно нулевой задержки в мс.

вой задержки наблюдался достоверный минимум КФ, а у восьми пар значение экстремума (либо максимума, либо минимума) было существенно (более чем на 40 мс) смещено относительно нулевой задержки.

Примеры этих функций приведены на рис. 3. В четырех случаях (рис. 3, А—Г) очевидны выраженные минимумы КФ. При этом, как и для максимумов, можно было выделить и широкие (рис. 3, А), и узкие (рис. 3, Б) минимумы. У двух пар (рис. 3, В, Г) этот минимум был существенно сдвинут относительно нулевой задержки. Так, на рис. 3, В приведен пример сильного отрицательного взаимодействия между двумя клетками, обе из которых характеризовались очень высокой частотой фоновой импульсации. КФ этой пары клеток явно ассиметрична. Отметим не только значительный сдвиг точки минимума относительно нулевой задержки, но и различие в форме кривой справа и слева от нулевой задержки. В паре, показанной на рис. 3, Г, наиболее выразительным аспектом КФ также является минимум, существенно сдвинутый в сторону отрицательной задержки, хотя при положительных задержках можно было отметить незначительный максимум.

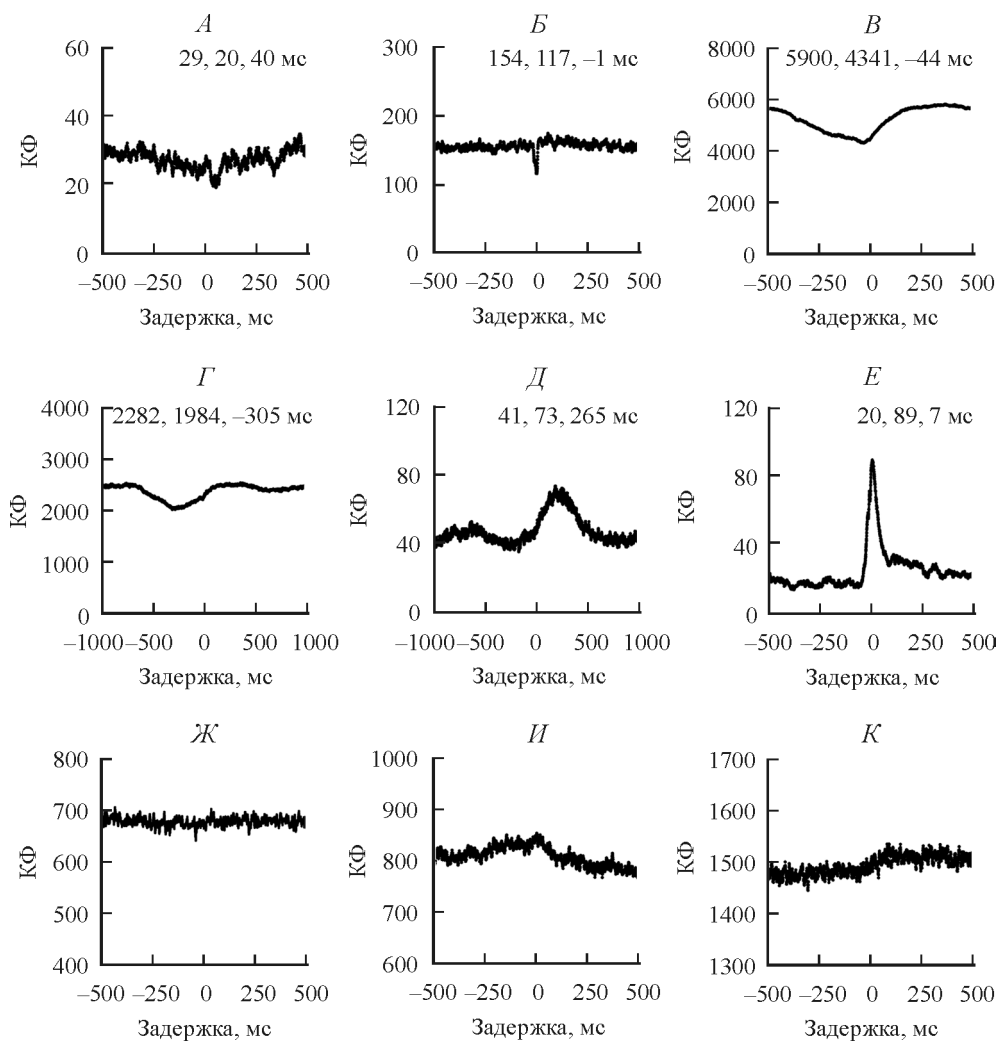


Рис. 3. Примеры КФ пар нейронов, отнесенных нами к необычным типам взаимодействия (верхний ряд).

По оси абсцисс — задержка в мс, по оси ординат — ненормированные значения КФ. На фрагментах А—Е цифрами указаны значения КФ для пуассоновского процесса, экстремальные значения КФ, а также сдвиг экстремума относительно нулевой задержки в мс. Следует обратить внимание на сдвиг шкал на фрагментах Г, Ж—И.

КФ еще для двух пар клеток с необычным типом взаимодействия представлены на рис. 3, Д, Е. В паре, иллюстрированной на рис. 3, Д, ярко выражен максимум КФ, сильно смещенный относительно нулевой задержки. Рис. 3, Е иллюстрирует случай, который мог быть отнесен ко второму подтипу (с узким максимумом), однако явная асимметрия формы КФ заставляет рассмотреть эту пару отдельно.

В нижнем ряду на рис. 3 представлены КФ, которые не были включены в число 93 функций с выраженным взаимодействием. На рис. 3, Ж приведена типичная в этом отношении пара, в которой, несмотря на сравнительно высокую частоту импульсации, какой-либо четкой взаимосвязи обнаружить не удастся. Однако на рис. 3, И, К можно обнаружить весьма интересные особенности. В этих



случаях выявлялись не сильно выраженные, но весьма длительные или даже односторонние влияния. Такое явление мы наблюдали у 6 пар нейронов. Отметим, что эти особенности КФ не выявлялись при использовании введенных нами критериев, которые были основаны на выделении локального максимума. Поэтому они не были включены в число 93 пар с явным взаимодействием. Однако во всех этих 6 случаях значения КФ при положительных и отрицательных задержках достоверно различались между собой ( $p < 0.0001$ ).

Для 80 функций КФ, отнесенных нами к трем стандартным подтипам по ширине пика КФ (широкий; узкий; как широкий, так и узкий), мы оценивали три основных параметра этой функции: отношение максимума к установившемуся значению, а также ширину пика на двух уровнях: 50 и 75 % от максимума. При этом выявилось значительное разнообразие этих параметров внутри каждого подтипа. В частности, относительная величина максимума (его отношение к среднему значению функции) могла варьировать более чем на порядок. Фактически разница между подтипами была очевидна только для тех параметров, которые собственно и использовались для классификации. Так, ширина КФ на уровне 75 % была достоверно больше в первом подтипе, чем в двух других, а ширина КФ на уровне 50 % была существенно меньше у нейронов второго подтипа.

Как уже отмечалось выше, в данной работе анализировалась та же популяция клеток, фоновая активность которых была подробно охарактеризована нами ранее [1]. Это давало возможность рассмотреть возможность существования связи между статистическими характеристиками фоновой активности исследованных нейронов и характером их взаимозависимости.

В работе [1] изученные нейроны были разделены на 3 большие группы, различающиеся по свойствам их автокорреляционных функций. К 1-й группе были отнесены клетки, фоновая активность которых лишь незначительно отличалась от Пуассоновской. Характерной особенностью нейронов 2-й группы было наличие выраженного пика автокорреляционной функции, следующего непосредственно за кратким рефрактерным периодом, и относительный дефицит интервалов, имеющих значения, близкие к среднему. Наконец, 3-я группа, будучи весьма неоднородной по ряду характеристик, отличалась высокой степенью пачечной активности.

Очевидно, что существует шесть возможных сочетаний пар клеток, принадлежащих к этим 3 группам. Заметим, что мы будем использовать термин «группы» для классификации, введенной в работе [1], и оставим термин «подтипы» для пар клеток, отличающихся характером взаимодействия. Рассмотрим, существуют ли какие-либо тенденции в отношении взаимосвязей клеток, принадлежащих по статистическим характеристикам фоновой активности к разным группам. Соответствующие данные приведены в табл. 2. Обращает на себя внимание тот факт,

Т а б л и ц а 2

Распределение характера взаимодействия пар в зависимости от сочетания групп фоновой активности (1, 2, 3-я) нейронов, включенных в исследованную пару

Группы клеток в паре	Общее число пар	Число коррелированных пар	Коррелированные пары, %
1-я—1-я	38	6	15.8
1-я—2-я	39	13	33.3
1-я—3-я	35	16	45.7
2-я—2-я	24	19	79.2
2-я—3-я	19	17	89.5
3-я—3-я	29	24	82.8
Σ	184	93	51.5

что для нейронов, фоновая активность которых лишь незначительно отличалась от Пуассоновской (3 верхних строки табл. 2), процентное соотношении пар, характеризующихся взаимозависимостью, сравнительно невелико. Оно составило только около 16 % для пар, в которых обе клетки принадлежали к 1-й группе, 33.3 % для пар, один из нейронов которой принадлежит ко 2-й группе, и около 50 % в случае принадлежности другого нейрона к 3-й группе. Иная ситуация наблюдается для нейронов, отличающихся выраженными особенностями временного течения фоновой импульсации, которые в работе [1] были отнесены ко 2-й и 3-й группам. Значительная часть пар, состоящих из клеток 2-й и 3-й групп, демонстрирует четкую взаимозависимость. Эта особенность выявляется у 79.2 % пар, включающих два нейрона 2-й группы, 82.8 % для пар, включающих два нейрона 3-й группы, и даже 89.5 % для пар, включающих один нейрон 2-й и один 3-й групп. Различия в вероятности взаимодействия пар, включающих и не включающих нейроны 1-й группы, вполне достоверны ( $p < 0.0001$ ).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Отметим несколько характерных свойств корреляционного взаимодействия близкорасположенных корковых нейронов, зарегистрированных у кошки в состоянии медленноволнового сна. Обращают на себя внимание следующие основные результаты. В некоторых местах регистрации взаимодействие клеток фактически отсутствует, в то время как в других точках регистрации большинство пар демонстрирует выраженную синхронность импульсации. К сожалению, условия наших экспериментов, когда одно подготовленное животное могло работать на протяжении нескольких лет в разных проектах, не позволяли сопоставить локализацию тех или иных типов нейронов с какими-либо элементами цитоархитектоники коры.

Наши данные, полученные в состоянии медленноволнового сна, подтверждают установленное мнение о крайней вариабельности связей между соседними клетками коры как в отношении различий в свойствах отдельных пар клеток, так и в отношении разнообразия свойств ансамблей, регистрируемых в одной точке мозга [12, 39].

Тот факт, что в режиме фоновой активности при медленноволновом сне почти половина из исследованных пар нейронов не проявляла выраженного взаимодействия, сам по себе представляет несомненный интерес. Заметим, что в одной из первых работ по взаимодействию клеток коры кошки (область средней супрасильвиевой извилины) [30] практически все исследованные пары проявляли взаимозависимость. Исходя из характеристик электроэнцефалограммы и некоторых данных, полученных при внутриклеточной регистрации [15, 41, 42], естественно было ожидать весьма высокой вероятности мощной положительной корреляции импульсной активности близкорасположенных корковых нейронов в состоянии медленноволнового сна.

Следует, однако, отметить, что в рассматриваемых работах данные по взаимозависимости активности одиночных клеток были получены при внутриклеточной регистрации у нейронов, характеризующихся выраженной пачечной активностью. Даже при этих условиях на приведенных иллюстрациях [15] видно, что при весьма выраженной синхронности локальной медленноволновой активности импульсные разряды близко расположенных клеток могли быть довольно вариабельны. Вполне естественно допустить, что при внутриклеточном отведении обычно регистрировали крупные пирамидальные клетки, обладающие пачечной активностью. Исходя из наших результатов, можно констатировать, что именно у пар клеток, имеющих тенденцию к сложному распределению межимпульсных интервалов (2-я и 3-я группы согласно классификации введенной в работе [1]), наиболее часто существовала достоверная взаимозависимость импульсации. В целом она присутствовала у 83.3 % таких пар (60 из 72).

Анализ данных литературы, полученных разными группами исследователей, показывает, что при обычной внеклеточной регистрации сон не приводил к резкому повышению взаимозависимости нейронов. Так, в слуховой коре обезьяны-мармозетки корреляция фоновой активности нейронов при медленноволновом сне если и усиливалась, то весьма незначительно [27]. Интересно, что при этом во сне гораздо сильнее усиливалась корреляция импульсной активности нейронов, определяемая воздействием звуковых сигналов.

Сравнительно недавно большой группой авторов было осуществлено исследование взаимной корреляции нейронов средневисочной извилины в состоянии сна у людей [35]. Сопоставление с нашими результатами демонстрирует их качественную близость. Большинство клеток коры мозга спящего человека обычно характеризовались автокорреляционной функцией с пиком, превышающим установившееся значение в 2—3 раза, что весьма напоминает данные, полученные в работе [1]. Четко выраженные моносинаптические связи были представлены только в очень малом числе исследованных клеток (0.17 % случаев). Полуширина пиков взаимной корреляции обычно составляла 100—200 мс, что также совпадает с типичными значениями, полученными нами у большинства нейронов спящей кошки. При этом в некоторых случаях отмечали и существенно более узкие пики корреляционной функции.

Поскольку данных по взаимозависимости одиночных клеток коры в состоянии естественного медленноволнового сна найти довольно трудно, следует рассмотреть некоторые результаты, полученные при легком кетаминовом наркозе, относительно которого некоторые авторы указывают на близость к состоянию сна, хотя другие указывают на неправомочность подобного сближения. В условиях кетаминового наркоза корреляцию фоновой активности нейронов в слуховой коре кошек анализировали в диапазоне интервалов  $\pm 50$  мс [20, 21]. При этом почти все исследованные клетки характеризовались пачечной активностью. При такой постановке эксперимента обычно наблюдали либо синхронный разряд соседних нейронов, либо только небольшой сдвиг довольно узкого максимума взаимной корреляции. Ширина зоны взаимодействия редко превышала 20—30 мс. Однако в тех редких случаях, когда иллюстрируемый интервал составлял  $\pm 500$  мс, иногда можно было выявить более широкие или даже смещенные пики взаимной корреляции [21].

В работе [17] эксперименты вели на наркотизированных кошках, однако авторы многократно подчеркивали, что поведение нейронов было сравнительно близко к ситуации медленноволнового сна. Только на одной иллюстрации приведен пример взаимной корреляции активности двух клеток коры. На ней видны выраженные низкочастотные колебания при задержке ближайшего пика примерно на 200 мс. Этот результат сопоставим с наблюдаемыми нами в редких случаях существенными сдвигами пика функции КФ (рис. 3). Медленные синхронные колебания наблюдались и в других работах [16].

Анализ литературы несомненно свидетельствует, что не только параметры фоновой импульсации отдельных клеток, но и характер их взаимозависимости существеннейшим образом связан с состоянием животного, а при наличии наркоза — с его глубиной. Особенно ярко этот факт был продемонстрирован в работе [22], выполненной на нейронах коркового представительства вибрисс крыс в условиях уретанового наркоза. Добавление препарата в дозе, составляющей всего 20 % от начальной, приводило к полному изменению характера фоновой активности. При этом резко увеличивалась пачечность, и более чем удваивался пик взаимной корреляции, расположенный в районе нулевой задержки. Когда уровень наркоза был минимален, локальные минимумы КФ, существовавшие вокруг центрального пика при среднем и глубоком уровне наркоза, сменялись вторичными максимумами с задержкой относительно центрального пика приблизительно на 200—300 мс [22].

В целом можно согласиться с мнением некоторых авторов в том, что активность коры в состоянии наркоза представляет собой упрощенную или даже кари-

катурную картину по сравнению с естественным сном [17]. Что касается непосредственно воздействия кетамина, то относительно этого препарата известно, что он резко подавляет активность сравнительно медленных NMDA глутаматных рецепторов, что вполне естественно может вести к сужению пика взаимной корреляции [23].

В условиях спокойного бодрствования динамические кросскоррелограммы были исследованы в довольно большом числе работ. Выделим работу, выполненную в зоне МТ зрительной коры мозга обезьяны при действии зрительных стимулов [25]. В условиях воздействия сигнала импульсация большинства нейронов была хорошо синхронизована. КФ характеризовалась центральным пиком шириной всего в несколько миллисекунд, окруженным диапазоном задержек, в котором корреляция была ниже нормы. Однако при регистрации активности в те временные интервалы, когда сигнала не было, т. е. в условиях, близких к фоновой импульсации, минимумы коррелограммы отсутствовали, а ширина пика существенно возрастала. Близкие данные были получены в работе [40]. При исследовании нейронной активности пар клеток первичной зрительной коры также было отмечено существенное расширение пиков взаимно корреляционных функций при закрытии глаз, т. е. в условиях отсутствия контролируемых зрительных стимулов [26].

В работе [28] исследовали взаимную корреляцию фоновой активности клеток срезов мозга в обонятельных зонах коры. Так же, как и в наших экспериментах, эта активность достаточно четко делилась на пачечную и квазипуассоновскую. Взаимодействующие пары резко различались между собой по ширине пика взаимной корреляции, причем для одной группы полуширина максимума взаимной корреляции не превышала 25 мс, а для другой варьировала в диапазоне 70—500 мс. Наши данные качественно совпадают с этими результатами.

Необходимо сопоставить наши результаты с большим комплексом работ, осуществленных отечественными авторами в различных областях коры мозга кошек и кроликов, обычно в состоянии спокойного бодрствования. Методически эти работы были достаточно близки к нашему исследованию, хотя в большинстве случаев для разделения клеток использовали только метод амплитудной дискриминации. Авторы обычно концентрировали свое внимание на экстремумах взаимной корреляции с задержками в несколько миллисекунд, которые могли быть интерпретированы как свидетельство непосредственных синаптических связей между изучаемыми клетками. В одной из первых таких работ, выполненной на слуховой коре кошек, весьма часто (почти в половине случаев) наблюдали коротколатентные тормозные взаимосвязи, выраженные в наибольшей степени у клеток с относительно большими амплитудами спайков [3]. Результаты, существенно более близкие к нашим, были получены в другой работе [11], где тормозное взаимодействие соседних нейронов слуховой зоны коры было отмечено только в одном из 20 случаев. При этом наиболее распространенными являлись взаимосвязи, соответствующие 2-му и 3-му подтипам нашей классификации.

При исследовании зрительной коры большинство связей между соседними клетками были возбуждающими и характеризовались центральным пиком функции взаимной корреляции [9]. В большой популяции нейронов моторной и фронтальной коры [4] многие исследуемые пары проявляли синхронное возбуждающее воздействие при отсутствии взаимного торможения. При этом в большинстве рассмотренных работ отмечалось, что существенная часть взаимокорреляционных функций нейронов коры, даже регистрируемых одним электродом, не демонстрировала четкой взаимозависимости моментов появления спайков.

Вопрос о сравнительной слабости взаимной корреляции спайковой активности соседних нейронов довольно широко обсуждается в последнее время. При внутриклеточной регистрации обычно обнаруживается, что синаптические воздействия на два соседних нейрона коррелируют между собой значительно сильнее, чем их выходная импульсная активность [24]. Авторы указывают на то, что

нейронные сети коры организованы таким образом, чтобы нейтрализовать коррелированность синаптических входов. Четкого объяснения этого эффекта еще не получено, хотя основные гипотезы сводятся к взаимному подавлению примерно одинаковых по мощности возбуждающих и тормозных входов [31].

Полученные в нашей работе результаты демонстрируют, что и в состоянии сна характер взаимосвязей соседних нервных клеток может принципиально различаться, варьируя от полной независимости к довольно выраженной синхронности. В целом с учетом наших данных можно прийти к выводу о том, что взаимозависимость нейронов коры в состоянии естественного медленноволнового сна существенно ближе к спокойному бодрствованию, чем к состояниям, возникающим под действием разных видов наркоза.

Как уже было сказано выше, в данной работе мы анализировали характер взаимодействия тех же нейронов, особенности фоновой активности которых были описаны в нашей предыдущей работе. Это позволило провести анализ возможных связей между характеристиками фоновой активности отдельных нейронов и особенностями их взаимодействия. Хотя мы не осуществляли морфологическую идентификацию нейронов, относимых нами к разным подтипам по характеру фоновой активности, можно полагать, что клетки, включенные в 1-й подтип, с большим основанием могут рассматриваться как интернейроны, а клетки 2-го и 3-го подтипов со значительной вероятностью можно сопоставить с пирамидальными клетками. В пользу этого предположения свидетельствуют большие амплитуды и длительности спайков, отмеченные у клеток этих подтипов.

На наш взгляд, этому не противоречит численная процентная оценка соответствующих групп. В большинстве публикаций число зарегистрированных пирамидальных клеток существенно превосходит число интернейронов, однако следует отметить, что как при обычной внеклеточной регистрации, так и особенно при внутриклеточном отведении пирамидальные нейроны регистрируются гораздо легче. При использованной нами методике регистрации и сортировке нейронов мы могли эффективно выявлять клетки с относительно небольшой амплитудой спайков, сдвигая таким образом общий баланс в сторону интернейронов.

В нескольких работах было показано, что вероятность взаимосвязи между двумя пирамидальными клетками существенно выше, чем между пирамидальной клеткой и интернейроном. Так, в работе [33] авторы исследовали связи между пирамидальными и непиримидальными клетками переживающих срезов коры крыс. Согласно их оценкам вероятность связи между пирамидальной клеткой и расположенным вблизи нее интернейроном составляла всего 0.28.

В другой работе авторы делают очень важное (хотя и недостаточно обоснованное количественно) замечание [32]. Они дословно пишут следующее: «Взаимосвязанные нейроны с большей вероятностью являются пачечными и имеют более низкую среднюю частоту импульсации». Именно такие данные были получены нами при исследовании фоновой активности спящей кошки (табл. 2). Дополнительно заметим, что по данным нашей предыдущей работы [1] частота импульсации нейронов 1-й группы, не проявляющих пачечной активности, была достоверно выше, чем у двух других групп. Таким образом, мы приходим к предварительному заключению, что и в состоянии медленноволнового сна взаимосвязи пирамидальных нейронов между собой выявляются с большей вероятностью, чем их взаимосвязи с интернейронами. Этот вывод не противоречит данным литературы.

В целом, если предположить, что степень взаимозависимости импульсной активности одиночных нейронов коррелирует с их вовлеченностью в решение каких-либо конкретных задач, то следует признать, что, несмотря на отсутствие внешних стимулов, функционирование нейронов во время сна никак не прекращается. Этот вывод хорошо согласуется с висцеральной теорией сна, согласно



которой в период сна корковые нейроны переключаются с анализа экстероцептивных сигналов на анализ информации, поступающей во время сна в кору от различных висцеральных систем организма [6].

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 16-04-00413 и 16-04-01066. Программное обеспечение осуществлялось С. В. Низамовым.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Бибииков Н. Г., Пигарев И. Н. Фоновая активность одиночных нейронов коры спящей кошки. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 99(3): 348—362. 2013.
- [2] Богданов А. В., Галашина А. Г. Анализ сопряженной импульсации пар нейронов в микроструктурах коры мозга. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 86: 497—506. 2000.
- [3] Гасанов У. Г., Галашина А. Г. Анализ межнейронных связей в слуховой коре бодрствующих кошек. Журн. высш. нервн. деятельности. 25(5): 1053—1060. 1975.
- [4] Долбакян Э. Е., Мержанова Г. Х. Организация нейронных сетей неокортекса. Журн. высш. нервн. деятельности. 52: 456—466. 2002.
- [5] Пигарев И. Н. Манипулятор для микроэлектродных исследований нейронов головного мозга без снятия твердой мозговой оболочки. Физиол. журн. СССР. 63 (7): 1060—1062. 1977.
- [6] Пигарев И. Н. Висцеральная теория сна. Журн. высш. нервн. деятельности. 63 (1): 86—104. 2013.
- [7] Пигарев И. Н., Бибииков Н. Г., Бусыгина И. И. Изменения внутрижелудочной среды во время сна влияют на статистические характеристики нейронной активности коры мозга. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 100: 722—736. 2014.
- [8] Серков Ф. Н., Яновский Е. Ш., Тальнов А. Н. О моносинаптических тормозящих постсинаптических потенциалах нейронов коры больших полушарий. Нейрофизиология 7(5): 458—467. 1975.
- [9] Рапопорт С. Ш., Силкис И. Г. Совместная деятельность близлежащих нейронов зрительной коры бодрствующих кошек. Журн. высш. нервн. деятельности. 31(4): 812—818. 1981.
- [10] Черниговский В. Н. Интерорецепторы. М. Медгиз. 1960.
- [11] Яновский Е. Ш., Куенко В. М. Межнейронные взаимодействия в слуховой коре бодрствующих кошек. Нейрофизиология. 16(2): 161—167. 1984.
- [12] Berger D., Warren D., Normann R., Arieli A., Grue S. Spatially organized spike correlation in cat visual cortex. Neurocomputing. 70: 2112—2116. 2007.
- [13] Brosh M., Shreiner C. E. Correlation between neural discharges are related to receptive field properties in cat auditory cortex. Eur. J. Neurosci. 11: 3517—3530. 1999.
- [14] Castro S., Falconi A., Chase M. H., Torterolo P. Coherent neocortical 40-Hz oscillations are not present during REM sleep. Eur. J. Neurosci. 37: 1330—1339. 2013.
- [15] Chauvette S., Volgushev M., Timofeev I. Origin of active states in local neocortical networks during slow sleep oscillation. Cerebral Cortex. 20: 2660—2674. 2010.
- [16] Compte A., Sanchez-Vives M. V., McCormick D. A., Wang X. J. Cellular and network mechanisms of slow oscillatory activity (<1 Hz) and wave propagations in a cortical network model. J. Neurophysiol. 89(5): 2707—2725. 2003.
- [17] Contreras D., Steriade M. Synchronization of low-frequency rhythms in corticothalamic network. Neuroscience. 76: 11—24. 1997.
- [18] Destexhe A., Contreras D., Steriade M. Spatiotemporal analysis of local field potentials and unit discharges in cat cerebral cortex during natural wake and sleep states. J. Neurosci. 19: 4595—4608. 1999.
- [19] Dikson J. W., Gernstein G. L. Interaction between neurons in auditory cortex of the cat. J. Neurophysiol. 37 (6): 1239—1261. 1974.
- [20] Eggermont J. J., Smith G. M., Bowman D. Spontaneous burst firing in cat primary auditory cortex: age and depth dependence and its effect on neural interaction measures. J. Neurophysiol. 69: 1292—1313. 1993.
- [21] Eggermont J. J. Properties of correlated neural activity cluster in cat auditory cortex resemble those of neural assemblies. J. Neurophysiol. 96: 746—764. 2006.



- [22] *Erchova I. A., Lebedev M. A., Diamond M. E.* Somatosensory cortical neuronal population activity across states of anesthesia. *Eur. J. Neurosci.* 15:744—752. 2002.
- [23] *Foster A. C., Fagg G. E.* Neurobiology. Taking apart NMDA receptors. *Nature.* 329 (6138): 395—396. 1987.
- [24] *Graupner M., Reyes A. D.* Synaptic input correlations leading to membrane potential decorrelation of spontaneous activity in cortex. *J. Neurosci.* 33(38):15075—15085. 2013.
- [25] *Huang X., Lisberger S. G.* Circuit mechanisms revealed by spike-timing correlations in macaque area MT. *J. Neurophysiol.* 109: 851—866. 2013.
- [26] *Jermakowicz W. J., Chen X., Khaytin I., Bonds A. B., Casagrande V. A.* Relationship between spontaneous and evoked spike-time correlations in primate visual cortex. *J. Neurophysiol.* 101: 2279—2289. 2009.
- [27] *Issa E. B., Wang X.* Increased neural correlations in primate auditory cortex during slow-wave sleep. *J. Neurophysiol.* 109: 2732—2738. 2013.
- [28] *Ma J., Lowe G.* Correlated firing in tufted cells of mouse olfactory bulb. *Neuroscience* 169:1715—1738. 2010.
- [29] *Modha D. S., Singh R., Mishkin M.* Network architecture of the long-distance pathways in the macaque brain. *Proc. Nat. Acad. Science. USA.* 107(30): 13 485—13 490. 2010.
- [30] *Noda H., Adey W. R.* Firing of neuron pairs in cat association cortex during sleep and wakefulness. *J. Neurophysiol.* 33(5): 672—684. 1970.
- [31] *Okun M., Lampl I.* Instantaneous correlation of excitation and inhibition during ongoing and sensory-evoked activities. *Nat. Neurosci.* 11:535—537. 2008.
- [32] *Okun M., Steinmetz N. A., Cossell L., Iacaruso F., Ko H., Bartho P., Moore T., Hofer S. B., Mrsic-Flogel T. D., Carandini M., Harris K. D.* Diverse coupling of neurons to populations in sensory cortex. *Nature.* 521(7553):511—515. 2015.
- [33] *Otsuka T., Kawaguchi Y.* Common excitatory synaptic inputs to electrically connected cortical fast-spiking cell networks. *J. Neurophysiol.* 110: 795—806. 2013.
- [34] *Pedreira C., Martinez J., Ison M. J., Quiroga R. Q.* How many neurons can we see with current spike sorting algorithms? *J. Neurosci. Methods.* 211 (1): 58—65. 2012.
- [35] *Peyrache A., Dehghani N., Eskandar E. N.* Spatiotemporal dynamics of neocortical excitation and inhibition during human sleep. *Proc. Nat. Acad. Science. USA.* 109: 1731—1736. 2012.
- [36] *Pigarev I. N., Rodionova E. I.* Two visual areas located in the middle suprasylvian gyrus (cytoarchitectonic field 7) of the cat's cortex. *Neuroscience.* 85(3):717—732. 1998.
- [37] *Pigarev I. N., Saalman Y. B., Vidyasagar T. R.* A minimally invasive and reversible system for chronic recordings from multiple brain sites in macaque monkeys. *J. Neurosci. Methods.* 181(2):151—158. 2009.
- [38] *Reinoso-Suárez F.* Topographischer Hirnatlas der Katze für experimentell-physiologische Untersuchungen. Darmstadt. Merck. 1961.
- [39] *Sakata S., Harris K. D.* Laminar structure of spontaneous and sensory-evoked population activity in auditory cortex. *Neuron.* 64: 404—418. 2009.
- [40] *Smith M. A., Kohn A.* Spatial and temporal scales of neuronal correlation in primary visual cortex. *J. Neurosci.* 28: 12 591—12 603. 2008.
- [41] *Steriade M., Timofeev I., Grenier F.* Natural waking and sleep states: a view from inside neocortical neurons. *J. Neurophysiol.* 85:1969—1985. 2001.
- [42] *Volgushev M., Chauvette S., Mukovski M., Timofeev I.* Precise long-range synchronization of activity and silence in neocortical neurons during slow-wave oscillations. *J. Neurosci.* 26:5665—5672. 2006.
- [43] *Zimmerman M.* Ethical principles for maintenance and use of animals in neuroscience research. *Neurosci. Lett.* 73: 1. 1987.

Поступила 5 V 2017  
После доработки 26 X 2017