

УДК 612.825

ФИЗИОЛОГИЯ

Ф. Рихтер, В. Гашке, Р. Фехнер, Л. Р. Манвелян*

Послойное исследование развития распространяющейся депрессии в коре мозга у крыс в различные сроки постнатального периода

(Представлено академиком НАН Армении В. В. Фарнаджяном 3 X 1994)

Леао [1] впервые обнаружил и описал распространяющуюся депрессию (РД) в коре мозга у кроликов. Проявляется она выраженной деполяризацией нейронов (20 мВ и более), увеличением калиевой концентрации в межклеточном пространстве ($[K^+]_o$) и распространяется в коре мозга со скоростью 3 мм/мин. Показано отсутствие РД в коре мозга у 10-дневных крыс. Последняя появляется лишь с 15-дневного возраста. У 21-дневных животных временные и амплитудные параметры РД идентичны с таковыми, зарегистрированными у взрослых животных [2]. Первая волна РД в коре мозга появляется с 12—13-дневного возраста, обнаруживается только в 40 % случаев и отличается низкой амплитудой и длительной негативной волной по сравнению со взрослыми животными (5 мВ, 300 с и 11 мВ, 85 с, соответственно) [3]. Наряду с этим в указанные сроки (с небольшим отставанием в 1—2 дня) РД имеет место в хвостатом ядре и гиппокампе с идентичными временными и амплитудными параметрами. У кроликов также в эти сроки появляется первая негативная волна РД [4, 5]. Однако у морской свинки РД с низкой амплитудой регистрируется уже на 1-й день постнатального периода [6], в то время как у кур—между 19-м и 21-м днями [6—8].

Развитие РД находится в тесной корреляции с морфологическими и биохимическими процессами, имеющими место в ткани мозга в период постнатального развития [9]. Если толщина коркового слоя к третьему дню после рождения у крыс равна 1,2 мм, то к 90-му она составляет 2,1 мм [10]. Доля объема межклеточного пространства ткани мозга больше у новорожденных крыс и уменьшается с возрастом. Первые признаки уменьшения объема экстраклеточного пространства были отмечены в V и VI слоях коры мозга на 6—7-й день после рождения; в последующем—в III и IV слоях (на 8—9-й день). Далее имеет место значительное уменьшение межклеточного пространства во всех слоях коры мозга и в белом веществе между 10-м и 21-м

днями постнатального периода. После 21-го дня объем последнего не меняется и равен объему такового взрослого животного. Если взрослых крыс в спинном мозге межклеточное пространство занимает 20—25% ткани, то у новорожденных—28—40% [11]. Параллельно повышается и $[K^+]_e$: уровень $[K^+]_e$ у 10—14-дневных крыс значительно выше, чем у 3—6-дневных [11, 12].

Вместе с тем в тематической литературе отсутствуют данные о послонном исследовании в коре мозга таких основных параметров РД, как временные и амплитудные характеристики негативной волны одновременно с $[K^+]_e$ в различные сроки постнатального развития. Вышеизложенное послужило основой для проведения настоящей серии экспериментов.

Исследования проводили на 20 крысах породы „Wistar“ в возрасте 9—70 дней, весом 14—300 г в условиях острого опыта, под уретановым наркозом (1500 мг/кг, в/бр). В процессе всего эксперимента температуру тела животного поддерживали в пределах 37°C. Доступ к сенсомоторной коре осуществляли вскрытием черепной кости бором (диаметр отверстия 4 мм) и после удаления твердой мозговой оболочки вводили стеклянный микроэлектрод (рис. 1, Б) с диаметром кончика 5 мкм, сопротивлением около 5 МОм на глубину

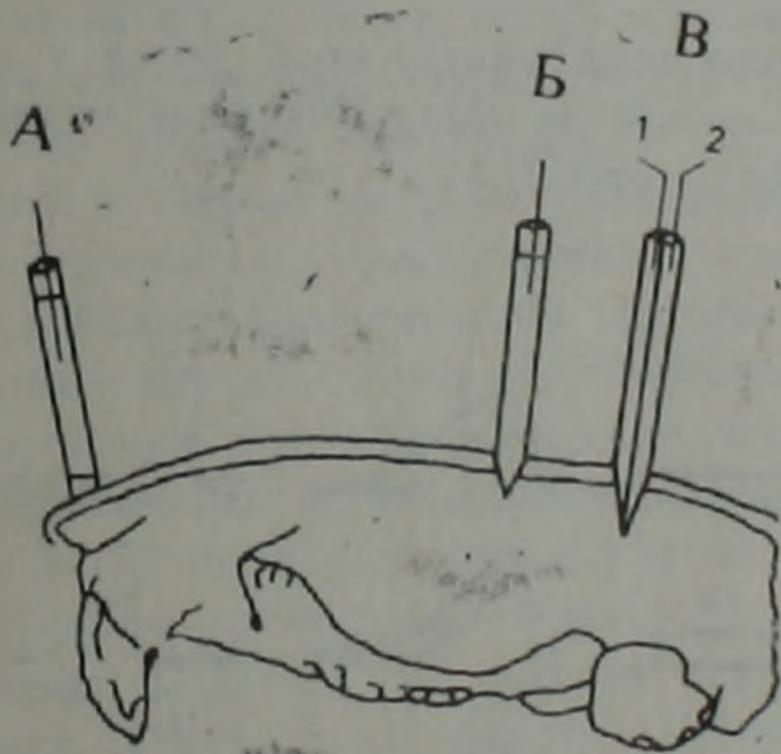


Рис. 1. Схематическое изображение расположения электродов на коре мозга. А—нейтральный электрод; Б—поверхностный электрод; В—двухканальный ион-селективный электрод. Подробности в тексте

200 мкм, заполненный 150 мМ NaCl с целью отведения поверхностного негативного потенциала. Через это же отверстие вызывали РД легким покалыванием острой иглой коры мозга. В течение всего эксперимента поверхность последней орошали искусственной цереброспинальной жидкостью [13], температуру которой постоянно поддерживали в пределах 37°C. РД в различных слоях коры мозга регистрировали с помощью двухствольного стеклянного микроэлектрода с

диаметром каждого кончика в 3 мкм. Один из них использовали для отведения медленного негативного потенциала. Он был заполнен 150 мМ NaCl (рис. 1, В, 1). Другой—ион-селективный, изготовление и калибровка которого производились методом Нихолсона [14] (рис. 1, В, 2)—для измерения $[K^+]_e$. Шаг погружения двухствольного электрода составлял 200 мкм. РД регистрировали на глубинах 200—1000 мкм и вызывали через 45—60 мин после предыдущего. Ион-селективный электрод располагали на расстоянии 1—1,5 мм от поверхностного. Общий нейтральный электрод с пористой мембраной, заполненный 2 М KCl, устанавливали на носовой кости после удаления кожи (рис. 1, А). Электроды подключали к усилителю с высоким входным сопротивлением. Запись и сохранение данных производились с помощью специальной программы на компьютере. У всех крыс в конце опыта после в/бр введения сукцинилхолина (1 мМ на целое животное) регистрировалось предсмертное повышение амплитуды негативной волны и $[K^+]_e$, что свидетельствует о нормальной работе электродов и функциональном состоянии животных.

Животные были подразделены на четыре возрастные группы по 5 крыс в каждой: первая группа—9—11-дневные, вторая—12-дневные, третья—13—30-дневные и четвертая, контрольная, группа—31—70-дневные.

В ответ на легкое покалывание коры мозга у животных первой группы ни в одном случае не были выявлены медленная негативная волна, повышение $[K^+]_e$ (рис. 2, А).

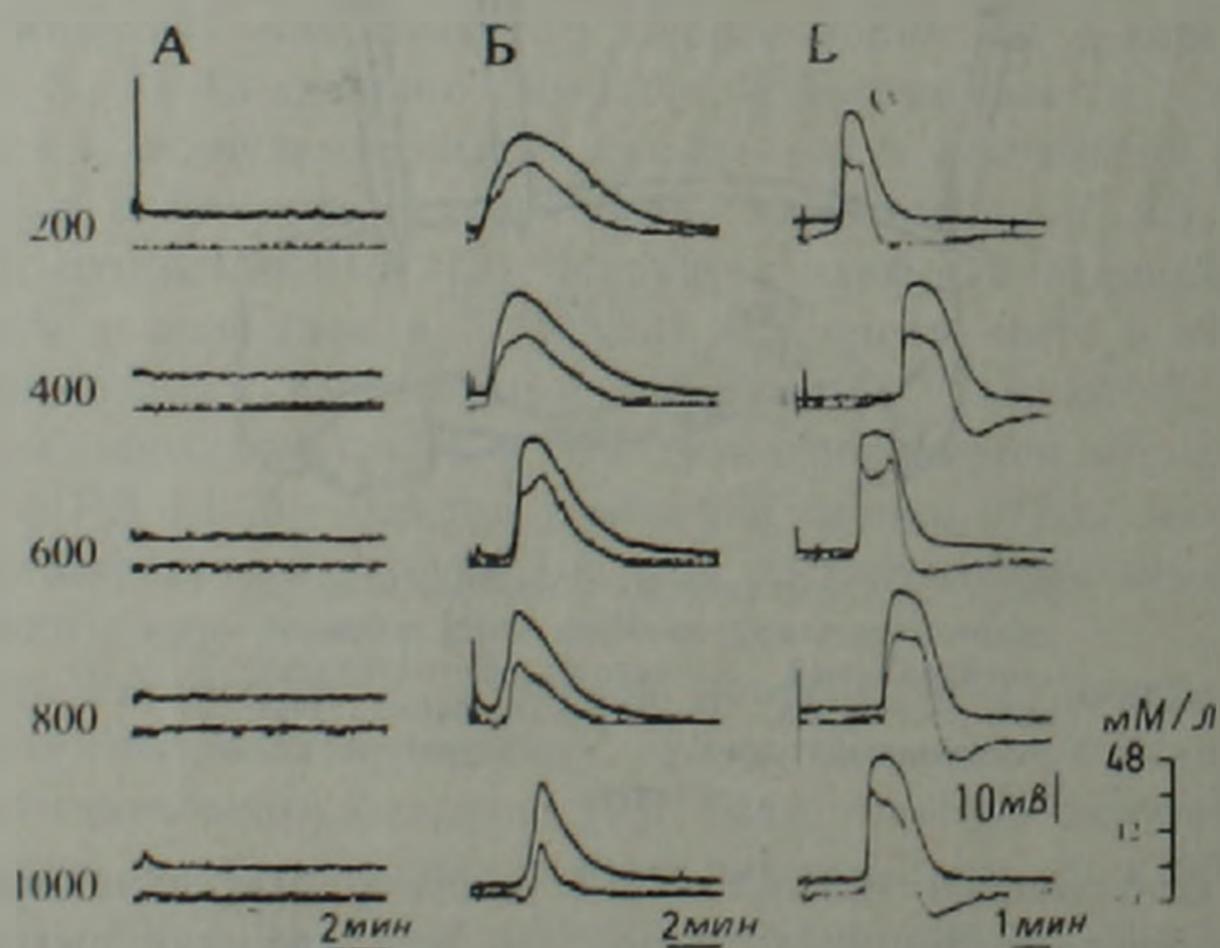


Рис. 2. Послойное отведение медленных негативных потенциалов (нижние кривые) и калиевой концентрации в межклеточном пространстве (верхние) из коры мозга в ответ на ее легкое покалывание у 11-дневных (А), 12-дневных (Б) и 20-дневных (В) крыс. Цифры слева—глубина погружения электрода от дорсальной поверхности коры мозга, мкм. В начале всех кривых, иллюстрирующих калиевую концентрацию в межклеточном пространстве, отчетливо видны артефакты раздражения.

У животных второй группы РД была зарегистрирована только у двух крыс из пяти. Легкое покалывание коры мозга приводило к появлению негативной волны, отличающейся медленной фазой восхождения (около 2 мин) и низкой амплитудой (рис. 2, Б, нижние кривые). Сходная картина наблюдается и при регистрации $[K^+]_e$ (рис. 2, Б, верхние кривые). На глубине 200 мкм амплитуда негативной волны равна 15 мВ, а $[K^+]_e$ составляет около 12 мМ. С углублением электрода отмечается увеличение амплитуды негативного потенциала с одновременным укорочением ее восходящей фазы и общей длительности. Последние достигают своего максимального значения на глубине 600 мкм (рис. 2, Б, нижние кривые). При дальнейшем погружении электрода отмеченные параметры уменьшаются, и на глубине 1000 мкм амплитуда негативного потенциала составляет 10 мВ. У трех крыс наблюдалось повышение $[K^+]_e$ на глубинах 600-1000 мкм до 8-10 мМ, однако это недостаточно для вызова РД [10].

В третьей группе в ответ на легкое покалывание РД регистрировалась у всех пяти крыс во всех слоях коры мозга (рис. 2, В). Амплитуда медленной негативной волны достигала 20 мВ и более (рис. 2, В, нижние кривые), а $[K^+]_e$ составляла около 48 мМ (рис. 2, В, верхние кривые). Временные характеристики исследуемых параметров у животных этой группы отличались как быстрой скоростью подъема восходящей фазы, так и более короткой общей длительностью. В части случаев нисходящая фаза негативного потенциала, пересекая фоновый уровень, переходила в положительную волну и восстанавливалась в течение 60—90 с (рис. 2, В, нижние кривые).

Результаты проведенных экспериментов показали сходство временных и амплитудных характеристик медленной негативной волны и $[K^+]_e$ у животных третьей и контрольной групп.

Анализ полученных результатов выявил, что РД в коре мозга у крыс можно вызвать лишь с двенадцатидневного возраста. У животных в возрасте 9—11 дней ни в одном случае не были обнаружены медленная негативная волна, повышение $[K^+]_e$. Аналогичные результаты были получены Бурешем [9], который также отметил отсутствие РД в коре мозга у десятидневных крыс. Первая волна негативного потенциала была выявлена им в возрасте пятнадцати дней. Более того, имеется также полное совпадение формы и длительности медленного негативного потенциала, зарегистрированного в проведенных нами опытах на крысах в возрасте двенадцати дней.

Важно указать, что РД была выявлена только в двух случаях из пяти (40%) у животных второй группы. Амплитудные и временные характеристики негативных потенциалов полностью совпадают с таковыми, зарегистрированными Фифковой [3]. Показано также, что при углублении отводящего двухствольного электрода (т. е. регистрация РД из различных слоев коры мозга) параллельно с увеличением амплитуды негативной волны повышается и $[K^+]_e$. С возрастом также укорачивается длительность медленного негативного потен-

цнала с одновременным увеличением его амплитуды и повышением $[K^+]_e$.

Согласно данным морфологических исследований [10, 11, 14, 15], именно в эти сроки постнатального периода (от 6-го до 21-го дня) животного происходит развитие нервных и глиальных клеток, выражающееся в их набухании, активном росте дендритного дерева и аксонов, образовании связи между нейронами, глиальными клетками, глией и кровеносными сосудами, что и приводит к уменьшению объема межклеточного пространства и возрастанию диффузии ионов. В исследованиях, проведенных на гиппокампе, было показано, что у мышей 9—12-дневного возраста межглиальные связи либо отсутствуют, либо слабо выражены [16], что согласуется с полученными нами данными о выявлении РД только в 40% случаев у крыс первой группы. Более того, первые волны электрической активности коры больших полушарий (ЭЭГ) у крыс обнаруживаются с 7—8-го дня после рождения [17]. Мы полагаем, что эти процессы, протекающие в коре мозга, могут влиять на временные и амплитудные параметры медленного негативного потенциала и изменение $[K^+]_e$.

Работа финансирована BMFT (№ 01ZZ 9104) и Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). Авторы выражают благодарность организации DFG за предоставленную возможность в проведении настоящего исследования.

Институт физиологии I Йенского университета
им. Ф. Шиллера, Германия

* Институт физиологии им. Л. А. Орбели НАН Армении

Ֆ. ՌԻՆՏՆԵՐ, Վ. ՀԱՇԿԵ, Ռ. ՅԵՐԿՆԵՐ, Է. Ռ. ՄԱՆՎԵԼՅԱՆ

Առնետների մոտ հետժննդյան տարրեր ժամանակահատվածներում
ուղեղի կեղևում ծագող տարածվող ճնշվածության ըստ շերտերի
հետազոտություն

Առնետների մոտ սուր փորձի պայմաններում, հետժննդյան տարրեր ժամանակահատվածներում կատարվել է ուղեղի կեղևի բացասական պոտենցիալի ժամանակային և ամպլիտուդային պարամետրերի ըստ շերտերի և ուղեղի կեղևի միջբջջային տարածքում կալիումի խտության հետազոտություն՝ տարածվող ճնշվածության ուսումնասիրման նպատակով: Կենդանիները բաժանվել են շորս տարիքային խմբերի՝ առաջին խումբ՝ 9—11 օրական, 2-րդ խումբ՝ 12 օրական, 3-րդ խումբ՝ 13—30 օրական, 4-րդ, ստուգիչ խումբ՝ 31—70 օրական: 2-րդ խմբի 5 կենդանիներից միայն 2-ի մոտ է (40%) գրանցվել կեղևի թեթև ծակելու դեպքում տարածվող ճնշվածություն: Այդ խմբի կենդանիների մոտ բացասական պոտենցիալի ժամանակային և ամպլիտուդային պարամետրերն, ինչպես նաև միջբջջային տարածքում կալիումական խտությունը առանձնանում են ցածր ամպլիտուդով և վերրնթացի դանդաղությամբ: Տարիքի ավելացման հետ կարճանում է դանդաղ պոտենցիալի տևողությունը, միաժամանակ ավելանում են նրա ամպլիտուդը ու միջբջջային տարածքում կալիումի խտությունը:

Փորձերի արդյունքները ցույց են տալիս 3-րդ և 4-րդ խմբերի կենդանի-
ների մոտ տարածվող ճնշվածության հիմնական բնութագրերի լիովին նը-
մանություն:

ЛИТЕРАТУРА—ՎՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. A. A. P. Leao, J. Neurophysiol., v. 7, p. 359—390 (1944).
2. J. Bures, O. Buresova, J. Krivanek. Academia, Praha, 1974.
3. E. Fifkova, Physiol. Bohemoslov., v. 13, p. 263—267 (1964).
4. H. Neverlee, J. Physiol. (Paris), v. 58, p. 573 (1966).
5. H. Neverlee, P. de Laget, J. Physiol. (Paris), v. 58, p. 574 (1966).
6. J. Sedlacek, Physiol. Bohemoslov., v. 16, p. 350—357 (1967).
7. J. Sedlacek, Physiol. Bohemoslov., v. 13, p. 510—515 (1964).
8. J. Sedlacek, Physiol. Bohemoslov., v. 15, p. 111—116 (1966).
9. J. Bures, EEG Clin. Neurophysiol., v. 9, p. 121—130 (1957).
10. A. Lehmenkühler, E. Sykova, J. Svoboda e. a., Neurosci., v. 55, p. 339—351 (1993).
11. E. Sykova, P. Jendelova, J. Svoboda e. a., Can. J. Physiol. Pharmacol., v. 70, p. 5301—5309 (1992).
12. E. Sykova, J. Svoboda, A. Chvatal e. a., in: A. Lehmenkühler, K.—H. Grotemeyer, F. Tegmeier (Eds) Migzenberg, München—Wien—Ballimore, p. 491—510, 1993.
13. A. Lehmenküler, Z. EEG. EMG, v. 21, p. 1—6 (1990).
14. C. Nicholson, J. Neurosci. Meth., v. 48, p. 199—213 (1993).
15. H. Sontheimer, S. G. Waxman, J. Neurophysiol., v. 65, p. 989—1002 (1991).
16. Ch. Steinhäuser, R. Jads, H. Kettenmann, Hippocampus, v. 4, p. 19—36 (1994).
17. L. Deza, E. Eidelberg, Exp. Neurol., v. 17, p. 425—438 (1967).