

УДК 597.82:612.886

В. И. Погосян, академик НАН Армении В. В. Фанарджян, Л. Р. Манвелян

Перфузируемый препарат мозга лягушки

(Представлено 18/VII 1996)

Техника инкубации переживающих срезов мозга и препаратов изолированного мозга давно заняла прочное место среди важнейших методов нейрофизиологического и нейрохимического исследования (1-4). Возможность изучения динамики функциональных и метаболических процессов параллельно с анализом механизмов синаптических межнейрональных взаимодействий определили особое место этих методических подходов. В равной мере это относится и к исследованию центральной нервной системы лягушки (5-7). Однако вопросы использования мозга лягушки как объекта нейрофизиологического исследования еще полностью не решены. Весьма существенно, что такой препарат лишен капиллярного кровотока и поэтому ограничена доставка кислорода, субстратов и метаболитов в мозг. В данной работе сделана попытка восполнить этот пробел посредством разработки методики перфузируемого препарата мозга лягушки.

Эксперименты проводили на лягушках *Rana ridibunda*, которые глубоко наркотизировались внутрибрюшинным введением нембутала (50 мг/кг) или помещением животного в 0,1-0,2%-ный раствор MS-222. Лягушка охлаждалась посредством обложения кусочками льда.

Вскрывалась грудная клетка и обнажалось сердце. Надрезался желудочек сердца и через него в дугу аорты вводилась канюля (предварительно заполненная рингеровским раствором), которая фиксировалась специальной клеммой. Немедленно после этого для оттока перфузируемой жидкости вскрывалась венозная пазуха позади сердца. Применялся раствор Рингера, содержащий 75 мМ NaCl, 25 мМ NaHCO₃, 2 мМ CaCl₂, 2 мМ KCl и 11 мМ глюкозы (pH 7,4) (5). В течение эксперимента этот раствор постоянно насыщался

смесью 98% O_2 и 2% CO_2 и охлаждался до 14-18°C. Раствор перфузировался со скоростью 1-2 мл/мин.

После обеспечения перфузии препарата с дорсальной стороны вскрывались череп и позвоночный столб лягушки. От скорости проведения этой процедуры (не более 10 мин) зависело состояние препарата во время эксперимента. На обнаженном мозге в областях отведения электрической активности и приложения раздражающих электродов аккуратно удалялись твердая и сосудистая оболочки. Лягушку укрепляли в специальной станине и охлаждали, обкладывая кусками льда.

Электрическое раздражение осуществляли одиночными прямоугольными ударами постоянного тока (0,05-0,2 мс; 0,05-0,4 мА), которые прикладывали через биполярные стимулирующие электроды, расположенные на различных афферентных нервах и различных участках мозга. Электроды были изготовлены из двух изолированных вольфрамовых проволок диаметром 20 мкм. Из-за близкого расположения раздражающих и отводящего электродов могла наблюдаться непосредственная, несинаптическая активация центральных нейронов и поэтому требовался тщательный контроль за интенсивностью раздражающего тока. Для внутриклеточного исследования применялись сточенные стеклянные микроэлектроды, заполненные раствором лимоннокислого калия (2 моль/л) с сопротивлением 10-20 мОм. Осуществлялся компьютерный анализ полученных данных. Пробеги луча с осциллографа были сконвертированы при помощи аналого-цифрового устройства и сохранялись в компьютере для последующей статистической обработки.

Описанный выше перфузируемый препарат мозга обладает рядом преимуществ перед ранее разработанным (неперфузируемым) препаратом изолированного мозга лягушки (4-6):

1) в перфузируемом препарате нервная ткань подвергается лишь минимальной травмированности, сохраняется целостность головного и спинного мозга; нет необходимости удаления каких-либо частей мозга для улучшения диффузии ринтгеровского раствора и исследуемых веществ;

2) в указанном препарате сохраняется капиллярная система, обеспечивающая быструю доставку кислорода, метаболитов и пр., а также испытуемых веществ к нервным клеткам;

3) препарат отличается длительной жизнеспособностью, что позволяло проводить электрофизиологический эксперимент до 6 и более часов, независимо от времени года.

Институт физиологии им. Л. А. Орбели НАН Армении

Գորտի ուղեղի պերֆուզիոն պրեպարատ

Մշակվում է գորտի մեկուսացված ուղեղի պերֆուզիոն պրեպարատ, որն օժտված է մի շարք առավելություններով, համեմատած նախկինում կիրառվող և գրականության մեջ հայտնի ոչ պերֆուզիոն պրեպարատների հետ: Նրա գլխավոր առավելությունը կայանում է գորտի ուղեղի բնականոն կենսագործունեության ապահովումը՝ օգտագործելով անոթների մազանոթային համակարգը ուղեղի մեկուսացումից հետո:

ЛИТЕРАТУРА – ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

- ¹ H.McDwain, in: Brain Slices, Plenum Press, N.Y., London, p.1-7, 1984.
² М.И.Митюшов и др. Переживающий срез мозга как объект нейрофизиологического и нейрохимического исследования, Наука, Л., 1986. ³ P.Lipton e.a., J. Neurosci. Methods, v.59, p.151-156 (1995). ⁴ N.Dieringer, Prog. in Neurobiol., v.46, p.97-129 (1995). ⁵ S.L.Cochran, P.Kasik, W.Precht, Synapse, v.1, p.102-123 (1987).
⁶ A.W.Kunkel, N.Dieringer, J. Comp. Neurol., v.174, p.621-632 (1994). ⁷ В.В.Фанарджян, Журн. эвол. биохимии и физиологии, т.30, с.134-155 (1994).