

УДК 612.825:612.822

Топольнік Є. В. канд. біол. наук, доц., Денисенко О. В. асп.,
Дейнека Ю. С. студ., Железна К. Г. студ., Ільницька Н. А. студ.,
Фоміна Ю. П. студ.

Одеський національний університет, кафедра фізіології людини та тварин, вул.
Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ВИВЧЕННЯ КОМПОНЕНТІВ СЛІДОВИХ ГІПЕРПОЛЯРИЗАЦІЙ, ЩО СУПРОВОДЖУЮТЬ ПАРОКСИЗМАЛЬНІ РЕАКЦІЇ НЕЙРОНІВ НЕОКОРТЕКСУ

У гострих дослідах на ненаркотизованих, знерухомлених щурах внутрішньоклітинно реєстрували реакції нейронів кори головного мозку після розвитку епілептиформної активності, яку викликали поверхневим аплікуванням стрихніну. Вивчали слідові де- і гіперполяризаційні потенціали нейронів. З метою визначення природи слідових гіперполяризацій досліджували вплив на них внутрішньоклітинного введення КСІ та блокатора ГАМК_B-рецепторно-канального комплексу (далі РКК) — CGP 35 348. Показано, що слідові гіперполяризації у глибоких шарах кори є багатокомпонентними і складаються з раннього СІ-залежного та пізнього ГАМК_B-опосередкованого компонентів.

Ключові слова: слідові гіперполяризації, неокортекс.

Аплікування стрихніну на поверхню кори *in vivo* викликає дефіцит гальмування і забезпечує розвиток епілептиформних розрядів [1, 2]. В переважній більшості випадків дефіцит гальмування в нейронах супроводжується різким посиленням збуджуючих реакцій і появою гігантських деполяризаційних стрибків мембранного потенціалу (далі МП) — так званих пароксизмальних деполяризаційних зміщень (далі ПДЗ) МП [3].

Слідові де- і гіперполяризаційні потенціали супроводжують ПДЗ, однак, погляди авторів щодо розподілу різних типів слідових потенціалів в залежності від їх тривалості та іонної природи суперечливі [4-6]. Враховуючи, що слідові гіперполяризації є важливим фактором, який визначає тривалість рефрактерного періоду ПДЗ та впливає на перехід від інтеріктальної до іктальної активності, стає необхідним вивчення розподілу цих типів реакцій *in vivo*, встановлення їх природи, а також можливих шляхів модифікації. Таким чином, метою нашої роботи було з'ясування можливого розподілу різних типів слідових гіперполяризацій нейронів у неокортексі і визначення їх компонентів.

Матеріали та методи досліджень

Дослідження були проведені на щурах лінії "Вістар" вагою 250-350 г. Підготовчі операції здійснювали під каліпсоловим наркозом (15 мг/кг, внутрішньом'язово). Протягом досліду тварину знерухомлювали за допомогою d-тубокурари-

ну (10 мг/кг) і переводили на штучне дихання. Усі точки фіксації та раньові поверхні обробляли розчином новокаїну. На протязі експерименту безперервно реєстрували електрокортикограму (ЕКоГ) та електрокардіограму (ЕКГ).

Внутрішньокіркові подразнення (далі ВКП) сенсомоторної ділянки кори здійснювали монополярно прямокутними імпульсами струму (1-20 В, 0,2 мс) за допомогою ніхромового електрода (діаметр 200 мкм). Біля подразнюючого електрода розташовували смужку фільтрувального паперу, на якому знаходилась канюля, з'єднана з мікрошприцом. Його наповнювали розчином у фізіологічному розчині стрихніном (0,1 %). Конвульсанти прикладали під тиском на поверхню кори в об'ємі біля 10 мкл.

Аплікування CGP 35348 (100 мкМ) здійснювали за допомогою мікропіпетки, яка була з'єднана з водяним мікроманіпулятором і переміщувалася у корі з кроком 5 мкм. Момент входу мікропіпетки у кору визначався за допомогою довгофокусного бінокюляра.

Внутрішньоклітинні відведення від нейронів сенсомоторної кори здійснювали за допомогою скляних мікроелектродів, які були заповнені розчином цитрату калію (2,0 М), або розчином KCl (2М) з опором 20-100 МОм. Нейрони, від яких здійснювали відведення, знаходились в II, III та IV шарах неокортексу.

Трепанційний отвір у черепі заливали теплим 3 %-ним розчином агар-агару.

У роботі приведені значення середніх арифметичних та стандартних відхилень. На рисунках зображені усереднені криві. Кожна крива — результат суперпозиції декількох (8-10) реакцій нейронів.

Результати та їх обговорення

Внутрішньоклітинно були вивчені реакції 29 нейронів сенсомоторної кори головного мозку щурів на ВКП до та після поверхневого аплікування розчину стрихніну.

Більшість досліджених клітин (16 із 18) нормальної кори на ВКП відповідали стандартними реакціями типу: збуджуючий постсинаптичний потенціал (далі ЗПСП), гальмівний постсинаптичний потенціал (далі ГПСП), ЗПСП — пік — ГПСП (рис. 1_{БВ}). Зменшення інтенсивності подразнення викликало зниження амплітуди ЗПСП, і потенціали дії (далі ПД) в даному випадку не виникали. Амплітуда підпорогових (для генерації ПД) ЗПСП у середньому складала $6,0 \pm 0,3$ мВ, а їх тривалість — $37,2 \pm 0,1$ мс. Латентний період ЗПСП у різних нейронів змінювався від 1,2 до 2,5 мс, що дозволило віднести їх до моносинаптичних. Невелика частина нейронів ($n=2$) на ВКР відповідала первинними ГПСП (рис. 1_А).

Амплітуда та тривалість ГПСП складала відповідно $8,0 \pm 0,7$ мВ і $306,9 \pm 12,0$ мс.

Величина МП нейронів у середньому була $52,5 \pm 1,0$ мВ.

Реакції 18 нейронів з'ясовували після поверхневого аплікування стрихніну. Розвиток епілептиформної активності в неокортексі за дії стрихніну супроводжувався появою на рівні окремих нейронів ПДЗ МП.

Амплітуда пароксизмальних деполяризаційних зміщень у нейронах II шару ($n=7$) складала $37,0 \pm 3,2$ мВ, а їх тривалість могла досягати $120,0 \pm 10,4$ мс і зростала з розвитком епілептогенного осередка. На глибині III шару ($n=5$) амплітуда ПДЗ складала $35,0 \pm 3,8$ мВ, а тривалість залишалась у тих же межах. На глибині

IV шару ($n=6$) ПДЗ МП були максимальні за амплітудою — $41,0 \pm 4,0$ мВ і за тривалістю — у середньому $460,0 \pm 5,8$ мс.

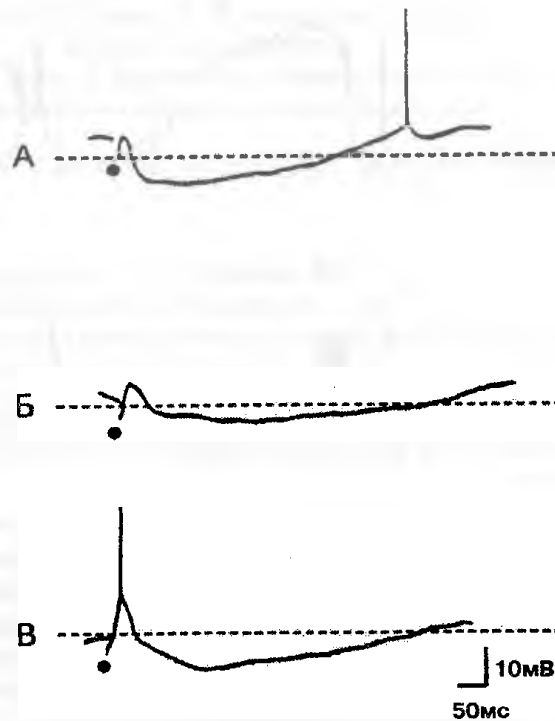


Рис. 1. Постсинаптичні реакції нейронів нормальної кори, викликані внутрішньокірковими подразненнями: А — первинний ГПСП; Б — ЗПСП — ГПСП; В — ЗПСП — пік — ГПСП.

Примітка. Пунктирною лінією позначено вихідний рівень МП (-50 мВ), крапками — моменти нанесення внутрішньокіркового подразнення.

Усі зареєстровані пароксизмальні реакції супроводжувались слідовими гіперполяризаціями. До того ж у різних шарах кори можна було виділити короткі — тривалістю 100-200 мс і тривалі — 400-1000 мс гіперполяризаційні потенціали. Короткі гіперполяризації можна було зареєструвати на глибині II-III шарів, а тривалі — на глибині IV шару.

В зв'язку з цим було цікаво встановити іонну природу цих слідових потенціалів. Реверсію хлорних струмів проводили за допомогою мікроелектродів, заповнених КСІ. В цьому випадку були зареєстровані реакції шести нейронів. Результати даної серії експериментів показали, що при початковій реверсії раннього хлорного компоненту ГПСП (рис. 2_{A1}) конвульсант може блокувати пізній компонент ГПСП (рис. 2_{A2}) і викликати розвиток ПДЗ МП, котрі не супроводжуються слідовими гіперполяризаціями (рис. 2_{A3}).

У випадку початкової аплікації конвульсанта пароксизмальні реакції нейронів на даній глибині завжди супроводжувались слідовими гіперполяризаціями (рис. 2_{B1}). Проникнення мікроелектродів, заповнених КСІ, у ці клітини ($n=5$) викликало реверсію ранніх хлорних компонентів слідових гіперполяризацій (рис. 2_{B2}). Ін'єкція CGP 35 348 вела до повного усунення слідових гіперполяризацій, пере-

творення їх у слідві деполяризації і посилення судомної активності у неокортексі (рис. 2_{Б3}).

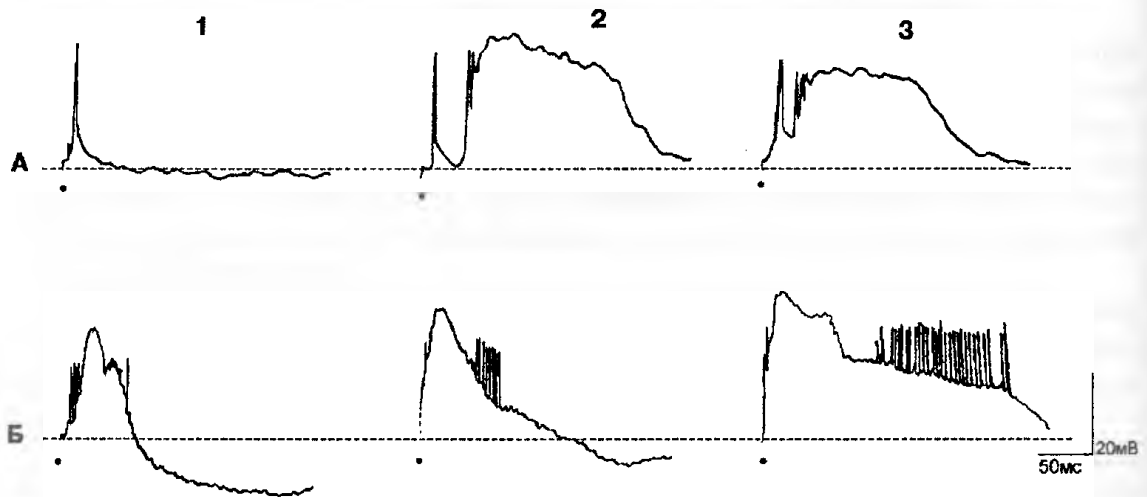


Рис. 2. Особливості пароксизмальних реакцій і слідових потенціалів нейронів IV шару при реверсії хлорного струму (відведення мікроелектродом, який заповнений КСІ). А — початкова реверсія хлорного компонента ГПСР (1) з послідовним аплікунням стрихніну (2) і розвитком пароксизмальної реакції (3); Б — аплікуння стрихніну (1) з послідовною реверсією хлорного компонента слідової гіперполяризації (2) і блокадою ГАМК_В-опосередкованого компонента CGP 35 348 (3). Решта позначень — такі ж, як і на рис. 1.

Таким чином, тривалі гіперполяризації, які супроводжують ПДЗ МП нейронів, були двокомпонентними і склалися з ранього СІ-залежного і пізнього ГАМК_В-опосередкованого компонентів. Наявність інших компонентів слідових гіперполяризацій у наших дослідженнях не спостерігалася.

Слідві гіперполяризації були відсутні тільки при аплікунні стрихніну після початкової реверсії СІ-струму. Очевидно, в даному випадку стрихнін не міг блокувати вихідний СІ-струм через ГАМК_А-РКК і усував пізній компонент ГПСР, опосередкований активацією ГАМК_В-РКК. Можливо, епілептогенна дія стрихніну в даному випадку пов'язана з блокадою не тільки ГАМК-РКК, але й гліцинових рецепторів, хоча гліцин і не грає у кірковому гальмуванні такої важливої ролі, як ГАМК. Разом з тим при аналізі взаємодії процесів збудження та гальмування в корі не можна не враховувати і роль гліцину, який також міститься у корі в значній концентрації і має тут власні рецептори [7]. Однак це питання потребує подальшого вивчення.

Література

1. Лопанцев В. Э., Тараненко В. Д., Одинцова Т. Б. Постсинаптические компоненты пароксизмальных реакций нейронов стрихнинизированной новой коры мозга // *Нейрофизиология*. — 1990. — Т. 22, № 5. — С. 642-643.
2. Лопанцев В. Э. Изменения мембранного и постсинаптических потенциалов нейронов новой коры, вызванные стрихнином // *Нейрофизиология*. — 1992. — Т. 24, № 6. — С. 684-691.
3. Matsumoto H., Ajmone-marsan C. Cortical cellular phenomena in experimental epilepsy: interictal manifestations // *Exp. Neurol.* — 1964. — N 4. — P. 286-304.
4. Окуджава В. М., Лабахуа Т. Ш., Месвиришвили Л. П., Чипашвили С. А., Квернадзе Г. Г., Цо-

- мая В. М. Ионные механизмы гиперполяризационных следовых потенциалов, сопутствующих эпилептическим разрядам нейронов новой коры // *Нейрофизиология*. — 1999. — Т. 31, № 3. — С. 195-203.
5. Gutnick M. J., Connors B. W., Prince D. A. Mechanisms of neocortical epileptogenesis in vitro // *J. Neurophysiol.* — 1982. — V. 48, N 6. — P. 1321-1335.
6. Witte O. W., Uhlig S., Valley E. Separation of different types of afterpotentials following penicillin-induced paroxysmal depolarization shifts of neurons in the motor cortex of the rat // *Neurosci. Let.* — 1989. — V. 101, №1. — P. 51-56.
7. Серков Ф. Н. Корковое торможение. — К.: Наукова думка, 1986. — 248 с.

**Топольник Е. В., Денисенко О. В., Дейнека Ю. С.,
Железная Е. Г., Ильницкая Н. А. Фомина Ю. П.**

Одесский национальный университет, кафедра физиологии человека и животных,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

**ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПОНЕНТОВ СЛЕДОВЫХ ГИПЕРПОЛЯРИЗАЦИЙ,
СОПРОВОЖДАЮЩИХ ПАРОКСИЗМАЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ НЕЙРОНОВ
НЕОКОРТЕКСА**

Резюме

В острых опытах на ненаркотизированных обездвиженных крысах внутриклеточно регистрировали реакции нейронов коры головного мозга после развития эпилептиформной активности, вызванной поверхностной аппликацией стрихнина. Изучали следовые де- и гиперполяризационные потенциалы нейронов. С целью установления природы следовых гиперполяризацій исследовали влияние на них внутриклеточного введения КСl и блокатора ГАМК_B-РКК — CGP 35 348. Показано, что следовые гиперполяризации в глубоких слоях коры являются многокомпонентными и состоят из раннего Cl⁻зависимого и позднего ГАМК_B-опосредованного компонентов.

Ключевые слова: следовые гиперполяризации, неокортекс

**Topolnik E. V., Denisenko O. V., Deineka Yu. S.,
Geleznaya E. G., Ilnickaya N. A., Fomina Yu. P.**

Odessa National University, Department of Human and Animals Physiology,
Dvoryanskaya St., 2, 65026, Ukraine

**THE INVESTIGATION OF THE COMPONENTS OF
AFTERHYPERPOLARIZATIONS FOLLOWING PAROXYSMAL
REACTIONS OF NEURONS IN NEOCORTEX**

Summary

In acute experiments on non-narcotized immobilized rats intracellular recording of cerebral cortex neuronal reactions after development of epileptiform activity aroused by surface application of strychnine has been done. Post de- and hyperpolarizatory potentials have been studied. The influence of intracellular injection of KCl and GABA_B blocker — CGP 35 348 on paroxysmal posthyperpolarizations have been studied with the aim to determine their nature. It is showed that afterhyperpolarizations of upper neocortical layers are multicomponent. They consist from early Cl⁻dependent and late GABA_B— related components.

Key words: afterhyperpolarizations, neocortex.