

rying functions, which is associated with the peculiarities of regulation of the genetic apparatus in them. The state of a cell defined as dystrophobiosis develops in old age.

Institute of Gerontology,
Academy of Medical Sciences, USSR, Kiev

Список литературы

1. Артюхина Н. М. Структурно-функциональная организация нейронов и межнейронных связей.— М.: Наука, 1979.—186 с.
2. Беляева Е. И. Структурно-функциональные изменения синаптических мембран мозга при старении. I съезд геронтологов Белоруссии: Тез. докл. Минск, 1983, с. 16.
3. Горбань Е. Н. Возрастные особенности влияния тиреотропного гормона на величину мембранного потенциала клеток щитовидной железы.— Физиол. журн., 1979, 25, № 4, с. 395—401.
4. Коробенкова М. М. Возрастная динамика Na^+ K^+ -АТФазы в печени и мозге крыс. II Всесоюз. биохим. съезд. Ташкент, 1969, т. 3, с. 121.
5. Соломатин С. С. Потенциалы покоя клеток печени и скелетных мышц в различные возрастные периоды.— Журн. эволюц. физиологии и биохимии, 1970, № 3, с. 345—347.
6. Ступина А. С. Функциональные и структурные изменения кровеносных капилляров миокарда в позднем онтогенезе.— Физиол. журн., 1978, 24, № 3, с. 358—365.
7. Танин С. А. К характеристике функциональных свойств мотонейронов спинного мозга старых крыс.— Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1976, № 8, с. 911—912.
8. Фролькис В. В. Регулирование, приспособление и старение.— Л.: Наука, 1970.—416 с.
9. Фролькис В. В. Старение. Нейрогуморальные механизмы.— Киев: Наук. думка, 1982.—316 с.
10. Фролькис В. В., Ступина А. С., Мартыненко О. А., Тотт Ш. Возрастные особенности структуры и функции нейронов малого парietального ганглия прудовика (*Lymnaea stagnalis*) и изменение их чувствительности к медиаторам. Журн. эволюц. физиологии и биохимии, 1983, № 3, с. 268—274.
11. Butterfield D. A., Markesberg W. R. Spin label studies of human erythrocyte membranes in aging.— J. Gerontol., 1982, 37, N 5, p. 535—539.
12. Galla H.-J., Hartmann W., Teilen U., Sackmann E. On two-dimensional passive random walk in lipid bilayers and fluid pathways in biomembranes.— J. Membrane Biol., 1979, 48, N 3, p. 215—236.
13. Kelley R. O., Vogel K. G., Skipper B. E., Lujan C. Development of the aging cell surface.— Exp. Cell. Res., 1979, 119, N 1, p. 127—143.
14. La Manna J. C., Doull G., Mc Cracken K., Hurik S. I. (Na^+ , K^+)-ATPase activity and ouabain-binding sites in the cerebral cortex of young and aged Fischer-344 rats.— J. Gerontol., 1983, 29, N 4, p. 242—247.
15. Sun A. Ya., Samorajski T. Effect of age alcohol on Na^+ + K^+ -ATPase activity of whole homogenate and synaptosomes prepared from mouse and human brain.— J. Neurochem., 1975, 24, N 1, p. 161—165.

Ин-т геронтологии АМН СССР, Киев

Поступила 04.05.84

УДК 577.352.5:612.825

А. И. Ройтбак, И. В. Очерашвили, Р. Г. Капель

ДЛИТЕЛЬНЫЕ ПОВЕРХНОСТНО-ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ И КОНЦЕНТРАЦИЯ ВНЕКЛЕТОЧНОГО КАЛИЯ В КОРЕ МОЗГА ПРИ РАЗНЫХ ПАРАМЕТРАХ ЕЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ СТИМУЛЯЦИИ

С помощью калийселективных микроэлектродов было установлено, что внеклеточная концентрация ионов калия ($[\text{K}^+]_n$) при отсутствии специальных раздражений составляет около 3 ммоль/л [6] и что при возбуждении нейрональных элементов в данном участке коры ее прирост ($\Delta[\text{K}^+]_n$) составляет несколько ммоль/л [9]. Было также отмечено, что возникающий на поверхности коры при ее тетаническом раздражении отрицательный сдвиг потенциала (ОСП) и изменения $[\text{K}^+]_n$ имеют сходное временное течение [8, 9]. В опытах с нанесением

на поверхность коры одиночного стимула и регистрацией медленного отрицательного потенциала (МОП) прямого ответа коры и $\Delta[K^+]_n$ нами было установлено, что МОП и $\Delta[K^+]_n$ имеют сходную форму и сходное временное течение [2]. С другой стороны, в опытах с регистрацией мембранного потенциала глиальных клеток коры было показано, что МОП и ОСП сходны по форме и временному течению с глиальной деполяризацией [4, 5]. Эти факты позволили предположить, что МОП и ОСП могут служить индикатором ряда процессов, разыгры-

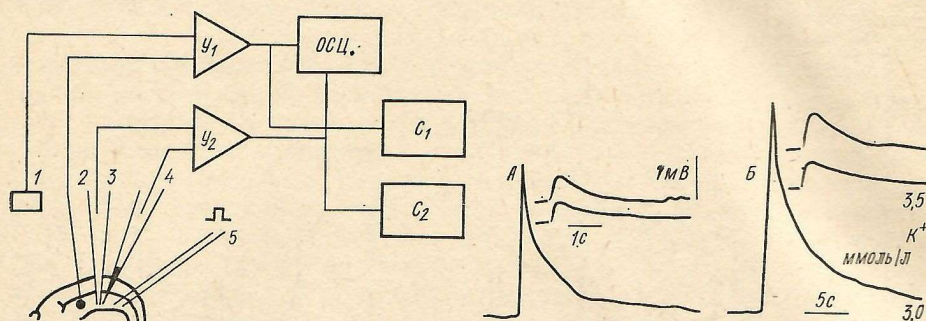


Рис. 1. Схема постановки опытов.

1 — референтный электрод; 2 — макроэлектрод; 3 — микроэлектрод, заполненный хлористым натрием; 4 — калийселективный микроэлектрод; 5 — раздражающие электроды. U_1 , U_2 — усилители; осц. — осциллограф; C_1 , C_2 — самописцы.

Рис. 2. Зависимость $\Delta[K^+]_n$ и МОП от напряжения одиночного стимула.

Длительность стимула 0,1 мс. А — приведены записи на бумаге изменений $[K^+]_n$ и одновременно произведенные осциллографические записи $[K^+]_n$ (нижняя кривая) и МОП (верхняя кривая). Напряжение стимула 40 В. Б — то же, что на А, но напряжение стимула 70 В. Калибровка времени для осциллограмм и для чернильных записей приведены на А и Б соответственно.

вающихся в коре, а именно изменений $[K^+]_n$ и мембранного потенциала глиальных клеток, который находится в логарифмической зависимости от $[K^+]_n$. Однако опыты, результаты которых будут ниже приведены, показали, что при некоторых сильных раздражениях коры положительная корреляция между указанными поверхностно-отрицательными потенциалами и $\Delta[K^+]_n$ нарушается.

Методика. Опыты проведены на взрослых кошках, наркотизированных нембутолом (60—80 мг/кг, подкожно). Электроды размещали на супрасильвиевой извилине; кору для подавления пульсаций заливали нагретой до 38 °С смесью вазелинового масла с воском. Температура коры составляла около 30 °С. Для электрического раздражения поверхности коры использовали биполярные электроды с межполюсным расстоянием 100 мкм. Отводящие макроэлектрод и микроэлектроды находились на расстоянии 1,0—1,5 мм от раздражающих. Серебряные макроэлектрод и пластинку (референтный электрод) хлорировали. Регистрацию изменений $[K^+]_n$ осуществляли посредством калийселективных микроэлектродов, методика изготовления которых была описана ранее [2]. Расстояние между кончиками стеклянной пипетки, содержащей жидкий K^+ -ионнообменник, 1 моль/л KCl, и пипетки с 1 моль/л раствором NaCl (референтный электрод) составляло 20—100 мкм. Их селективность для калия по отношению к натрию 50:1. Калибровку калийселективных микроэлектродов производили в растворах, содержащих 3, 4, 5, и 7 ммоль/л KCl в 150 ммоль/л NaCl. Кончики калийселективного микроэлектрода и референтного микроэлектрода с помощью шагового микроманипулятора вводили в кору на глубину 100—300 мкм.

Для усиления калиевого потенциала использовались дифференциальный усилитель постоянного тока с входным сопротивлением 10^{10} Ом. Усиление электрических потенциалов также производили по постоянному току. Регистрацию калиевого потенциала и электрического поля осуществляли одновременно на двух самописцах и с экрана двухлучевого катодного осциллографа. Схема постановки опытов показана на рис. 1. Для осциллографической регистрации изменений $[K^+]_n$, не искаженной наводкой от городской сети, усилители экранировали.

Результаты. На осциллограммах рис. 2 видно, что временное течение МОП и $\Delta[K^+]_n$ сходны, но спад калиевого потенциала длился дольше спада МОП, что соответствует ранее опубликованным данным [2]. При увеличении напряжения стимула увеличивалась амплитуда и МОП, и $\Delta[K^+]_n$ (рис. 2, А и Б). Обращает на себя внимание то обстоятельство, что в приведенном случае оба сигнала увеличивались примерно в равной степени: калиевый потенциал — на 46, МОП — на 42 %. На рис. 2 приводятся также записи $\Delta[K^+]_n$ на самописце: про-

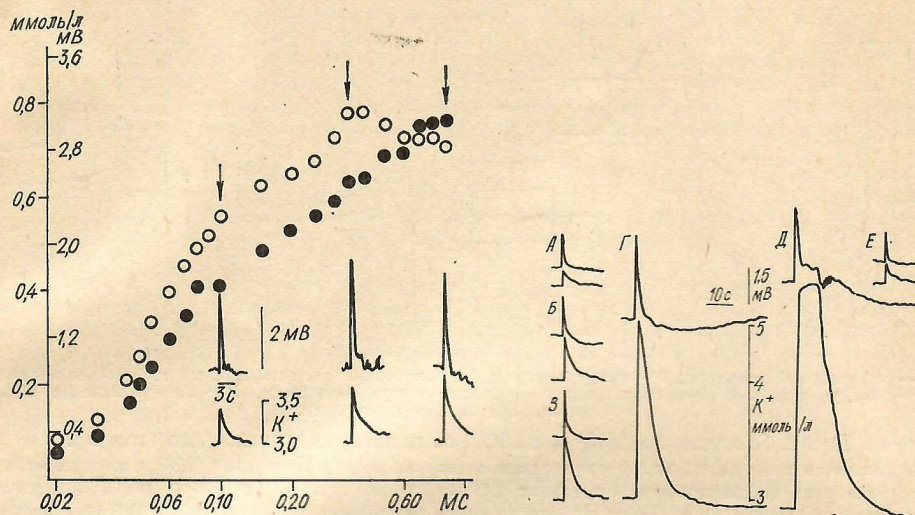


Рис. 3. Зависимость $\Delta[K^+]_n$ и амплитуды МОП от длительности стимула. По горизонтали — длительность стимула в мс (логарифмическая шкала). По вертикали — слева значения $\Delta[K^+]_n$ в ммоль/л (черные кружки), справа амплитуда МОП в мВ (светлые кружки). Напряжение стимула 80 В. Стрелками обозначены значения МОП и $\Delta[K^+]_n$, записи которых приведены. Верхние кривые — записи МОП, нижние — записи $[K^+]_n$.

Рис. 4. Зависимость $\Delta[K^+]_n$ и амплитуды МОП от количества стимулов. Период раздражения 600 мс. Напряжение стимулов 100 В, продолжительность — 0,3 мс. Верхние кривые — записи МОП, нижние — записи $[K^+]_n$. А — наносится одиночный стимул; Б — 4 стимула; В — 6 стимулов; Г — 20 стимулов; Д — 60 стимулов; Е — наносится одиночный стимул.

должительность калиевого потенциала при сильном стимуле измерялась десятками секунд, амплитуда его достигала 0,9 ммоль/л (рис. 2, Б); амплитуда МОП при этом составляла 0,6 мВ. Как уже говорилось, МОП спадает быстрее $\Delta[K^+]_n$. Например, на рис. 2, А видно, что МОП достиг исходного уровня за 2,2 с, в то же время уровень $[K^+]_n$ оставался повышенным на 0,3 ммоль/л, т. е. это изменение $[K^+]_n$ не находило отражения на поверхности коры. Эти записи свидетельствуют о том, что используемые в наших опытах калий-селективные микроэлектроды не регистрировали в какой-либо значительной степени потенциалы электрического поля; в пользу этого заключения свидетельствует и ряд других записей в этой статье.

На графике рис. 3 показано, что при увеличении продолжительности стимула (т. е. увеличении количества электричества в стимуле) увеличивались параллельно МОП и $\Delta[K^+]_n$. Такая корреляция имела в данном случае место при продолжительностях стимула от 0,02 (порог МОП) до 0,4 мс. Следует отметить наличие логарифмической зависимости амплитуды МОП и $\Delta[K^+]_n$ от продолжительности стимула в пределах 0,02—0,2 мс (продолжительность стимула отложена на логарифмической шкале). Это явление, которое неоднократно наблюдалось, требует специального анализа. При дальнейшем увеличении продолжительности стимула от 0,4 до 1 мс корреляция нарушалась: $\Delta[K^+]_n$ продолжал нарастать, а амплитуда МОП прогрессивно спадала (перекрест белых и черных точек). Когда нарушалась указанная корреляция, то изменялся характер потенциала поверхности коры: ослабление МОП сопровождалось возникновением медленного положитель-

ного отклонения, что видно из приведенных на рис. 3 записей ответов.

При увеличении числа стимулов в период раздражения $\Delta[K^+]_n$ и МОП суммировались. На рис. 4 приводятся результаты опытов, в которых в течение 0,6 с наносили то или иное число стимулов. Видно, что при увеличении числа стимулов от 1 до 20 росли как $\Delta[K^+]_n$, так и ОСП. При увеличении частоты стимулов значительно увеличивалась и длительность сдвигов $[K^+]_n$: после одного стимула $\Delta[K^+]_n$ длился 5 с, после четырех стимулов — 10 с, после шести — 14 с, после двадцати — 18 с. Таким образом, чем выше была частота стимуляции, тем больше времени занимало возвращение $[K^+]_n$ к исходному уровню. Продолжительность ОСП также увеличивалась с учащением стимулов, но в значительно меньшей степени, и поэтому, как правило, общая продолжительность ОСП уступала продолжительности калиевого потенциала. При дальнейшем увеличении количества стимулов (60 за 0,6 с) $\Delta[K^+]_n$ стал еще большим, а амплитуда ОСП заметно уменьшилась; при сравнении записей Г и Д на рис. 4 видно, что амплитуда ОСП при 60 стимулах меньше (на 15 %), чем при 20 стимулах, а $\Delta[K^+]_n$ больше (на 18 %). Кроме того, $[K^+]_n$ продолжала нарастать в течение примерно 8 с; в это время спад ОСП прекратился и возникло отрицательное плато. Спад калиевого потенциала совпал со спадом ОСП и возникновением всплеск электрических колебаний, после которых развилось сильное положительное отклонение. Контрольная запись на рис. 4, Е показывает, что повторные высокочастотные раздражения коры в данном случае не приводили к заметным изменениям ее функционального состояния. Таким образом, нарушение положительной корреляции между $\Delta[K^+]_n$ и ОСП сопровождалось резким изменением характера потенциала поверхности коры, в частности усилением положительного отклонения после ОСП.

При супрамаксимальных стимулах (10 мс, 100 В) и их высокой частоте (50 Гц, 5 с) $[K^+]_n$ повышалась на 3—4 ммоль/л, на поверхности коры сразу же, без предварительного возникновения ОСП, наступал положительный сдвиг потенциала коры, измеряемый несколькими мВ, на фоне которого регистрировались быстрые электрические разряды.

Обсуждение. В настоящем исследовании показано, что при увеличении в широких пределах интенсивности стимула (от порога МОП до $\times 20$ порога МОП) параллельно увеличиваются МОП и $\Delta[K^+]_n$ (рис. 2 и 3). При увеличении числа стимулов за период раздражения (от 1 до 20 стимулов) также происходило увеличение как МОП, так и $\Delta[K^+]_n$ (рис. 4). Установленная ранее тройная корреляция между МОП, глиальной деполяризацией и $\Delta[K^+]_n$ позволила сделать вывод о глияльном происхождении МОП и ОСП (2, 4). Параллельно однонаправленно протекающие изменения величины МОП и ОСП, с одной стороны, и $\Delta[K^+]_n$ — с другой, при изменениях параметров стимуляции также свидетельствуют в пользу этого заключения. Таким образом, МОП и ОСП могут в первом приближении отражать процессы, развивающиеся в поверхностном нейрониле коры; аккумуляцию ионов K^+ в межклеточном пространстве и изменения мембранного потенциала глиальных клеток. Однако при большой длительности одиночного стимула или при некоторой высокой частоте стимулов корреляция между отрицательными потенциалами и $\Delta[K^+]_n$ нарушалась. При увеличении длительности стимула $\Delta[K^+]_n$ продолжал увеличиваться, а МОП прогрессивно ослабевал, при этом вслед за ним возникал длительный положительный потенциал. При повышении частоты стимулов $\Delta[K^+]_n$ закономерно увеличивался, а ОСП ослабевал, возникали быстрые колебания в ЭКоГ и развивался длительный положительный потенциал. Возникновение быстрых разрядов последствия в ЭКоГ свидетельствует об усиленном возбуждении нейронов в данной области коры. Таким образом, нарушение корреляции между отрицательными потенциалами электрического поля и калиевыми потенциалами сопровождалось изменениями характера МОП и ОСП, в частности, возникновением положительного потенциала.

Длительные положительные колебания отражают, видимо, возбуждение нейронов глубоких слоев коры. Показано, что при электрическом раздражении изолированной полоски коры на поверхности коры возникают положительные потенциалы, отражающие распространение возбуждения по нейронам глубоких слоев коры [7]. Было обнаружено также, что после облучения коры рентгеновыми лучами в ответ на один стимул регистрировалось длительное положительное колебание вместо МОП, которое отражало возбуждение глубоких слоев [3].

Таким образом, можно предположить, что нарушение корреляции между МОП и калиевым потенциалом связано с возбуждением нейронов глубоких слоев коры. При умеренных интенсивностях и частотах стимуляции коры активируются главным образом нервные элементы поверхностных ее слоев; это обуславливает повышение $[K^+]_n$ и деполяризацию глиального синцития. Глиальные токи находят отражение на поверхности коры в виде МОП. Специальные исследования с послонным отведением [1] показали, что МОП прямого ответа коры генерируется в ее верхних слоях. При сильных раздражениях поверхности коры возбуждаются также элементы ее глубоких слоев. Это обуславливает возникновение положительного потенциала на поверхности коры, что приводит, несмотря на прогрессивное повышение $[K^+]_n$, к ослаблению или даже исчезновению МОП из-за алгебраического суммирования электрических полей. Но эти предположения нуждаются в дополнительных исследованиях, в первую очередь с параллельной регистрацией процессов на поверхности и в глубине коры.

Итак, МОП и ОСП могут служить достаточно точным индикатором $[K^+]_n$ и деполяризации глиального синцития нейропиля в поверхностных слоях только при некоторых умеренных интенсивностях и частотах раздражения. С другой стороны, можно предположить, что нарушение положительной корреляции между поверхностно-отрицательными потенциалами и $\Delta[K^+]_n$ указывает на возникновение патологически повышенной активности в коре мозга.

Выводы. При увеличении интенсивности одиночного стимула, наносимого на поверхность коры, медленный отрицательный потенциал (МОП) и внеклеточная концентрация ионов калия ($\Delta[K^+]_n$) в коре мозга параллельно увеличивались. При некоторых больших интенсивностях стимула $\Delta[K^+]_n$ продолжал увеличиваться, а МОП начинал уменьшаться.

При тетаническом раздражении коры по мере увеличения частоты стимулов отрицательный сдвиг потенциала коры (ОСП) и $\Delta[K^+]_n$ увеличивались, но при некоторой большой частоте $\Delta[K^+]_n$ продолжал увеличиваться, тогда как ОСП начинал ослабевать и даже в некоторых случаях реверсировать.

МОП и ОСП могут быть использованы как индикаторы $\Delta[K^+]_n$ и глиальной деполяризации при некоторой умеренной интенсивности и некоторой умеренной частоте раздражения поверхности коры.

A. I. Roitbak, I. V. Ocherashvili, R. G. Kapel

SLOW SURFACE-NEGATIVE POTENTIALS AND EXTRACELLULAR POTASSIUM CONCENTRATION IN THE CEREBRAL CORTEX AT DIFFERENT PARAMETERS OF ITS ELECTRICAL STIMULATION

The experiments were carried out on cats under pentobarbital anesthesia. The recording macroelectrode and K^+ -sensitive microelectrode were placed at a distance of 1 mm from the stimulating electrodes. Slow negativity (SN) and the concentration of extracellular potassium $[K^+]_o$ augmented in equal measure when the duration or frequency of stimuli applied to the surface of the cortex increased. This positive correlation was disturbed at supramaximal intensities or high frequencies of stimuli. This phenomenon was accompanied by the development of a positive potential after SN. Thus, SN can serve as an indicator of $\Delta[K^+]_o$ and glial depolarization only at definite parameters of stimulation.