

# ЭЛЕКТРИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙРОНОВ СРЕЗОВ ГИПОКАМПА *IN VITRO* ПРИ ВАРЬИРОВАНИИ УСЛОВИЙ РЕГИСТРАЦИИ

Г. С. Мазго

Белорусский государственный университет, г. Минск;

*bylehka@yandex.ru*;

науч. рук. - А. А. Денисов, канд. биол. наук

Целью работы являлось исследование функционирования срезов гиппокампа при различных режимах работы специализированной проточной регистрационной камеры. Проведен анализ существующих подходов к обеспечению стабильности функционирования нервной ткани при экспериментальной работе *in vitro*. Установлены параметры скорости и температуры перфузионного потока искусственной спинномозговой жидкости, обеспечивающие стабильность электрической активности с сохранением оптимальных условий функционирования срезов.

**Ключевые слова:** активность нейронов, срезы гиппокампа, перфузия, температура, электрофизиологические исследования, регистрационная камера.

## ВВЕДЕНИЕ

Человеческий мозг является наиболее сложноорганизованной биологической системой, при этом нервная ткань характеризуется и наиболее высоким энергопотреблением. Человеческий мозг, составляя всего около 2 процентов от общей массы тела, потребляет около 20 процентов кислорода из кровотока. Для обеспечения эффективного транспорта в мозге присутствует развитая сеть кровеносных сосудов. При проведении экспериментов со срезами ткани мозга *in vitro* требуется поддержание надлежащего уровня кислорода и питательных веществ без помощи внутренней сосудистой системы, что является сложной задачей, так как транспорт в таком случае осуществляется только за счет диффузии.

На сегодняшний день разработаны различные конструкции регистрационных камер, позволяющие обеспечить стабильный транспорт кислорода и питательных веществ, а также производить тонкий контроль локальной нейрохимической среды и возможность применения современных микроскопических и электрофизиологических методов [1]. Помимо жидкостных камер различных конфигураций, в которых срез со всех сторон омывается раствором, существуют интерфейсные, где срез закрепляется на границе раздела газа и жидкости, так как из газовой фазы кислород поступает более

эффективно. Для улучшения обмена в некоторых конструкциях используется набор полых микроигл, которые создают каналы для непосредственного введения раствора во внутренние слои среза мозга. Они позволяют раствору не просто омывать срез, а частично идти сквозь него. Также современные камеры могут включать элементы микрофлюидики, которые позволяют не просто обеспечить эффективный транспорт, но и локально контролировать состав среды на определенных участках среза.

При разработке регистрационной камеры возникает вопрос об оптимальных характеристиках перфузионного потока, при которых обеспечиваются оптимальные условия проведения экспериментальной работы. На функционирование нейронов влияет не только скорость перфузионного потока, влияющая на эффективность переноса кислорода, но и температура. Ее снижение уменьшает потребность нейронов в кислороде, однако при этом может влиять на различные биофизические и физиологические процессы – варьирование температуры изменяет вероятности высвобождения везикул с нейромедиаторами, меняет пассивные и активные свойства мембраны, влияет на работу ионных каналов [2].

Целью данной работы являлось исследование функционирования срезов гиппокампа при различных режимах работы проточной регистрационной камеры, разработанной на кафедре биофизики в составе научно-учебного комплекса для исследования механизмов нейросетевых и когнитивных процессов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Регистрация электрической активности проводилась в срезах гиппокампа толщиной 500 мкм 4-недельных крыс с применением научно-учебного комплекса для исследования механизмов нейросетевых и когнитивных процессов. Срез помещали в регистрационную камеру с элементами обеспечения стабильности скорости перфузионного потока искусственной спинномозговой жидкости (рисунок 1а). Стимулирующий электрод помещали в области коллатералей Шаффера, а регистрирующие электроды в *stratum radiatum* (регистрация возбуждающих постсинаптических потенциалов, ВПСП) и *stratum pyramidale* (регистрация популяционных спайков, ПС), как показано на рисунке 1б. Интервал между импульсами стимуляции составлял 20 с. амплитуда 20-30 мкА, частота – 0,05 Гц, длительность стимула – 0,2 мс. Параметры стимулирующих импульсов и перфузионного потока задавались при помощи программного обеспечения.

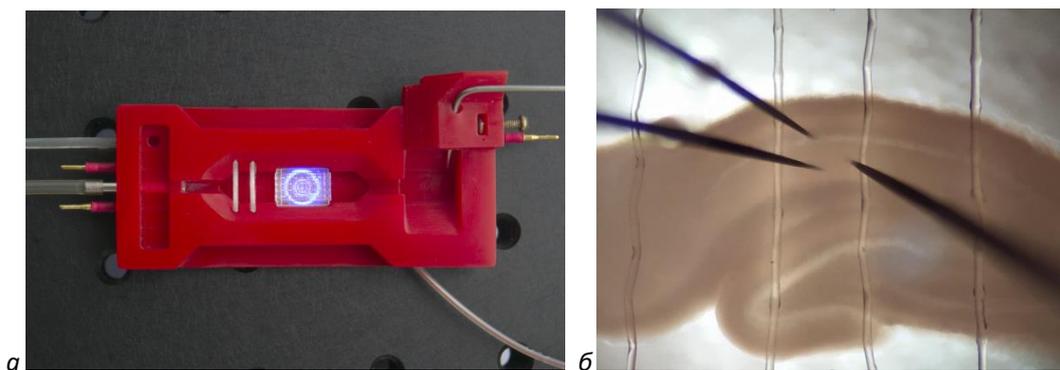


Рис. 1. Регистрационная камера (а) и размещение среза гиппокампа в камере (б)

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Для определения влияния характеристик перфузионного потока на функционирование нейронов срезов гиппокампа был проведен ряд экспериментов с изменением скорости перфузии и температуры. В первом случае с помощью системы управления насосом скорость потока раствора менялась через каждые 10 минут и регистрировалась амплитуда ВПСП и ПС. Пример полученных зависимостей представлен на графике на рисунке 2. Во втором случае посредством системы термостабилизации каждые 10 минут температура менялась от 24 до 29 градусов, а затем в обратном порядке, и регистрировалось влияние на амплитуду получаемых ответов. Пример полученных зависимостей представлен на графике на рисунке 3.

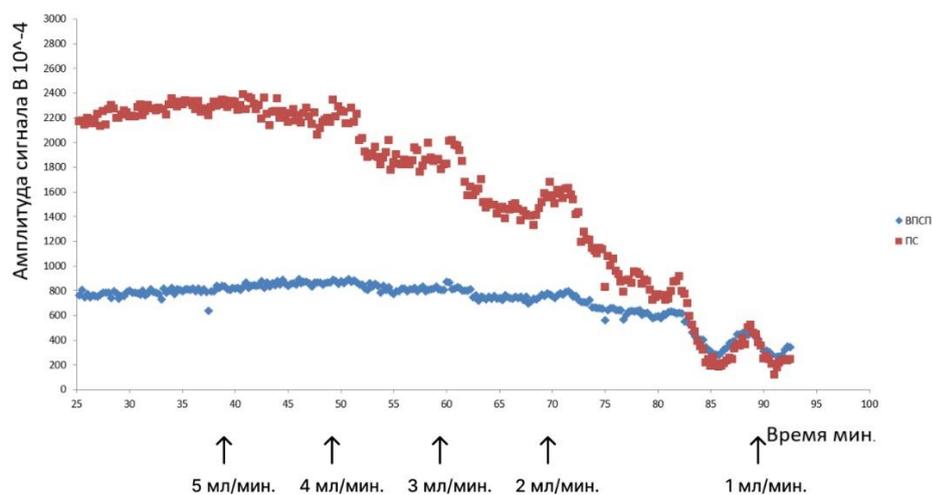


Рис. 2. Зависимость амплитуды ответов от скорости перфузии

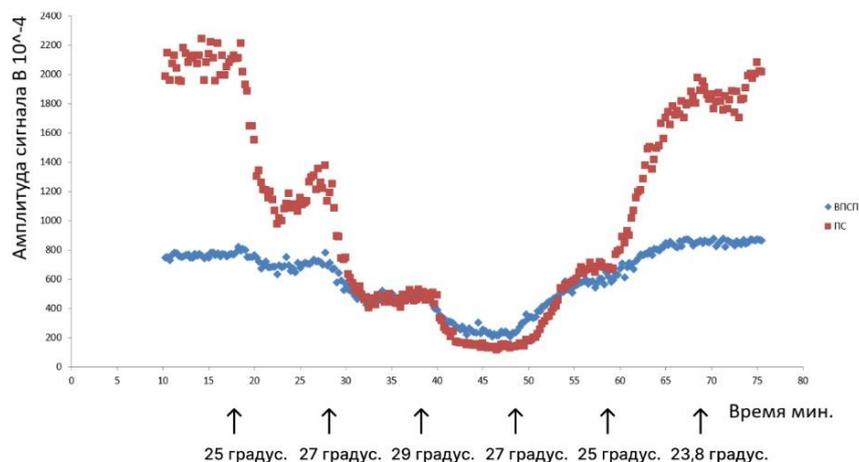


Рис. 3. Зависимость амплитуды ответов от температуры

Как следует из полученных зависимостей, снижение скорости перфузии сопровождается снижением амплитуды ответов на стимуляцию вследствие снижения поступления кислорода в ткань среза и активации защитных механизмов. Восстановление скорости перфузии приводит к восстановлению и дальнейшему возрастанию амплитуд ответов выше начального уровня, вероятно, из-за адаптации нервной ткани к низкому уровню кислорода

Оптимальной скоростью перфузии является 4 мл./мин. Снижение скорости перфузии приводит к нерациональному расходу раствора, снижение – к существенному понижению амплитуды ответов.

Увеличение температуры раствора сопровождается снижением амплитуды ответов из-за увеличения потребления кислорода нервной тканью. Последующее снижение температуры приводит к восстановлению амплитуды ответов. Оптимальной температурой является 27-28 °С, дальнейшее увеличение температуры может приводить к нестабильности амплитуд ответов из-за недостаточного поступления кислорода по диффузионному механизму при его повышенном расходе. Возможна модификация конструкции регистрационной камеры с целью фиксации среза набегающим потоком раствора.

#### Библиографические ссылки

1. Huang Y, Williams JC, Johnson SM // Brain slice on a chip: opportunities and challenges of applying microfluidic technology to intact tissues / Lab Chip. – 2012. – N12. P. – 2103-2117.
2. Van Hook MJ. // Temperature effects on synaptic transmission and neuronal function in the visual thalamus / PLoS One. – 2020. – V.15, N.4. – e0232451.