

На правах рукописи

**Карелина Татьяна Викторовна**

**ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ СИНАПТИЧЕСКОЙ АКТИВАЦИИ  
КЛЕТОК ПУРКИНЬЕ МОЗЖЕЧКА СИСТЕМОЙ ЛАЗЯЩИХ И  
МШИСТЫХ ВОЛОКОН**

Специальность 03.03.01 физиология

**Автореферат**

Диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

**Санкт-Петербург  
2010**

Работа выполнена в лаборатории сравнительной физиологии мозжечка (заведующий – член-корреспондент РАН, д.б.н., профессор Григорьян Роман Ашотович) Учреждения Российской академии наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

**Научный руководитель:**

Член-корр. РАН,  
доктор биологических наук, профессор  
**Григорьян Роман Ашотович**

**Официальные оппоненты:**

Доктор медицинских наук, профессор  
**Толкунов Борис Федорович**

Доктор биологических наук, профессор  
заслуженный работник высшей школы РФ  
**Лапицкий Виктор Петрович**

**Ведущее учреждение:**

Санкт-Петербургская Государственная  
Педиатрическая Медицинская Академия

Защита диссертации состоится «8» июня 2010 г. в 11 часов на заседании Диссертационного совета (Д 002.127.01) при Учреждении Российской академии наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН по адресу: 194223, Санкт-Петербург, пр. М.Тореза, д. 44.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения Российской академии наук Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2010 г.

Ученый секретарь  
Диссертационного совета  
доктор биологических наук, профессор

М.Н.Маслова

## Общая характеристика работы

**Актуальность проблемы.** Одной из актуальных проблем нейрофизиологии, и эволюционной нейрофизиологии в частности является изучение контроля, регуляции и координации движений. Мозжечок вовлечен в общий контроль движений вместе пирамидной и экстрапирамидной системами в отношении таких важных функций как плавность, точность и быстрота движений (Карамян, 1976; Разумеев, Григорьян, 1976, Толкунов Б.Ф. 1978). Он также участвует в механизмах предварительного программирования движений (Фанарджан, Григорьян, 1983; Ito, 1984). Между тем, своеобразие анатомической иннервации клеток Пуркинье и цитоархитектоники коры мозжечка, сходное у всех представителей позвоночных, делают мозжечок весьма удобным и привлекательным объектом для функционального изучения. Двойственный характер иннервации клеток Пуркинье системами мшистых и лазающих волокон (Ramon y Cajal, 1888; Eccles et al, 1967; Андреева, Обухов, 1999) позволяет успешно идентифицировать клетки Пуркинье в ходе проведения электрофизиологических исследований и оценивать эффективность синаптического действия, оказываемого этими афферентными системами на клетки Пуркинье.

Гармалин широко используется в исследованиях, связанных с физиологией клеток Пуркинье мозжечка. Это основано на том, что он является специфическим активатором нейронов ядер нижней оливы, аксоны которых формируют одну из важных афферентных систем мозжечка – систему лазающих волокон (Eccles et al, 1967; Ito, 1984; Miwa, 2000). Другим важным инструментом воздействия на афферентный вход к клеткам Пуркинье является этанол, который оказывает растормаживающий эффект на активность клеток Пуркинье мозжечка, активируемых системой мшистых волокон (Григорьян, Исмаилов, 1984). В то же время этанол вызывает подавление тремора, вызванного введением гармалина (Rapraort et al, 1984). Эти данные подтверждены тем, что при поступлении этанола в организм его наибольшая концентрация в пределах ЦНС обнаруживается именно в мозжечке и гиппокампе (Сытинский, 1980).

Наиболее адекватным в изучении механизмов контроля и регуляции движения является исследование в онтогенетическом плане, так как одним из путей решения задач эволюционной физиологии является сравнительно-онтогенетический метод (Орбели, 1961). Следует отметить, что роль мозжечка и его главного элемента – клеток Пуркинье – в контроле и регуляции движений в онтогенезе является одной из слабо разработанных разделов физиологии двигательного аппарата. Экспериментальный материал, выполненный на взрослых животных, довольно широко представлен в периодической литературе

(Armstrong, Edgley, 1988; McDevitt, 1982; Свенсон, 2005), а возрастной аспект физиологии клеток Пуркинье с параллельным изучением двигательных реакций на незрелорождающихся животных освещен крайне скудно. Научный интерес к этой теме диктуется еще и тем соображением, что незрелорождающиеся крысы значительно отличаются по темпам постнатального развития электрофизиологической картины разряда клеток Пуркинье от зрелорождающихся, в частности морских свинок, на различных стадиях развития (Тарасова, Григорьян, 1984; Григорьянн и др. 2003). Старение, являясь заключительным этапом онтогенетического развития, так же как и ранний период постнатальной жизни, включает изменения функциональной активности всех систем организма (Анисимов, 2003; McKay, Turner R, 2005).

С учетом сказанного, систематическое изучение эффективности синаптического действия двух основных афферентных входов к клеткам Пуркинье мозжечка, вовлеченных в контроль и регуляцию движений, представляется актуальным. Сочетание электрофизиологического метода исследования функционального состояния клеток Пуркинье мозжечка, активируемых системой лазающих и мшистых волокон у животных, находящихся на разных этапах онтогенеза, а именно на стадии морфо-функционального созревания клеточных элементов коры мозжечка (двухнедельные крысята), зрелой стадии развития (3-6 мес) и в процессе старения (25-36 мес) с изучением уровня двигательной активности является наиболее адекватным подходом в решении данной проблемы, который углубит наше понимание сложных механизмов контроля, координации и регуляции движений.

### **Цель работы**

Изучить особенности синаптической активации клеток Пуркинье мозжечка афферентами лазающих и мшистых волокон и ее связь с развитием моторной активности крыс на разных стадиях постнатального онтогенеза.

### **Задачи исследования**

1. Определить исходные численные показатели частотного спектра активности клеток Пуркинье, активируемых системами лазающих и мшистых волокон, параметров сложного спайка и длительности депрессии простых спайков после сложного разряда у крыс, находящихся на разных этапах онтогенеза.
2. Сравнить возрастные изменения частотного спектра клеток Пуркинье мозжечка, формы сложного спайка и длительности депрессии простых спайков с уровнем моторной активности крыс под влиянием гармалина.
3. Сравнить возрастные изменения частотного спектра клеток Пуркинье мозжечка, формы

сложного спайка и длительности депрессии простых спайков с уровнем моторной активности крыс под влиянием этанола.

### **Научная новизна работы**

Новизна работы заключается в том, что в ней впервые дан сравнительный анализ паттерна активности клеток Пуркинье мозжечка у представителя незрелорождающихся животных - крыс линии Вистар на разных стадиях онтогенеза, отражающих незрелый уровень развития клеточных элементов и синаптических связей в коре мозжечка, взрослую половозрелую стадию и старческие изменения. В работе впервые продемонстрирована различная чувствительность клеток Пуркинье мозжечка животных, находящихся на разных стадиях онтогенетического развития к введению гармалина и этанола.

В работе впервые установлено, что форма сложного спайка в разряде клеток Пуркинье мозжечка двухнедельных крыс уже соответствует взрослой стадии развития, а на поздней стадии онтогенеза наблюдаются ее инволюционные изменения. Кроме того, впервые показано, изменения формы сложного спайка под влиянием гармалина и этанола коррелируют с длительностью депрессией простых спайков.

Наконец, новым в работе является сопоставление полученных изменений паттерна активности клеток Пуркинье мозжечка и формы сложного спайка с уровнем развития двигательной активности в соответствующих возрастных группах у интактных животных и под влиянием гармалина и этанола.

### **Основные положения, выносимые на защиту.**

1. В процессе созревания и старения у представителей незрелорождающихся животных – крыс линии Вистар наблюдаются изменения частотного спектра активности клеток Пуркинье мозжечка, которые сопровождаются изменением уровня моторной активности как интактных животных, так и в условиях действия гармалина и этанола.
2. Форма сложного спайка у двухнедельных крысят соответствует взрослой, половозрелой стадии развития, в то время как у старых животных она существенно отличается от взрослых особей. Введение как гармалина, так и этанола изменяет форму сложного спайка, которое сопровождается изменением длительности депрессии у животных всех возрастных групп.

### **Научное и практическое значение работы.**

В работе проведен анализ функционального состояния клеток Пуркинье мозжечка крыс, активируемых афферентами лазающих и мшистых волокон, показывающий разную степень зрелости возбuditельно-тормозных процессов в коре мозжечка. Полученные данные расширяют теоретические представления о механизмах управления двигательной активностью животных на разных этапах онтогенеза. Полученные в работе

экспериментальные данные о влиянии гармалина на активность клеток Пуркинье могут быть использованы в качестве теоретического обоснования для объяснения механизмов возникновения и развития эссенциального тремора у людей. Материалы с влиянием этанола на афферентную систему мшистых волокон послужат углублению понимания механизмов нарушения позы и походки в начальных стадиях алкогольной интоксикации.

Кроме того, полученные результаты могут быть использованы в курсах лекций по физиологии центральной нервной системы для студентов биологических факультетов высших учебных заведений и медицинских педиатрических академий и университетов. Материалы диссертации могут также войти в руководства по общей физиологии ЦНС.

### **Апробация работы**

Материалы диссертационной работы докладывались на международном симпозиуме, посвященном позе и походке (Япония, Матсумото, 1994); на заседании лаборатории физиологии движений Рокфелеровского университета США (1996); на семинаре лаборатории физиологии ЦНС неврологического института Р.С. Дау (США, Портленд, 1996); на XXXIII международном Конгрессе физиологических наук (С-Петербург, 1997); на ежегодных собраниях Американского общества нейронаук: 30<sup>th</sup> Annual Meeting of American for Neurocience (New Orleans, 2000), 31<sup>th</sup> Annual Meeting of American for Neurocience (San Diego, 2001), 32<sup>th</sup> Annual Meeting of American for Neurocience (Orlando, 2002); на заседания Санкт-Петербургского общества физиологов в 2000 и 2001 годах, на Совещаниях и школах по эволюционной физиологии (1996, 2001, 2006); на конференции «Научное наследие академика Л. А.Орбели. Структурные и функциональные основы эволюции функций, физиологии экстремальных состояний» (2008); на VII Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 160-летию со дня рождения И.П.Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем» (2009).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 26 печатных работ, из них 8 статей, из них 4 в реферируемых журналах и 18 тезисов.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания методики и объектов исследования, изложения экспериментальных данных, обсуждения полученных результатов, выводов и списка литературы, содержащего 207 источников. Материал диссертации изложен на 125 страницах, иллюстрирован 22 рисунками и 5 таблицами.

## **Материалы и методы исследования**

Работа выполнена на 197 крысах, самцах линии Вистар. Все экспериментальные животные были разделены на три возрастные группы. В первую группу входили

двухнедельные крысята (13-14 суток), во вторую группу - взрослые животные (3-6 месяцев) и в третью группу – старые животные (25-36 мес.).

Анестезия и хирургические процедуры. Крыс внутрибрюшинно наркотизировали уретаном в дозе 1000-1400 мг/кг массы тела. С целью уменьшения пульсации поверхности мозжечка во время дыхания в Т-образный разрез на трахее вводили трахеотомическую трубку, которую закрепляли с помощью лигатуры. Трепанационное отверстие на затылочной кости черепа находилось в 1-2 мм от среднесагиттальной линии черепа, над зоной HV-NVI долек по классификации Ларселла (Larsell, 1934). После проведения операции животное закреплялось в стереотаксическом аппарате, где голова жестко фиксировалась с помощью ушных держателей. В течение всего времени проведения операционных процедур, а также во время опыта животные находились на термостатическом столике, где поддерживалась постоянная температура 38°C. После того как микроэлектрод касался коры мозжечка, отверстие в затылочной кости черепа заливалось 6% раствором агар-агара для предотвращения пульсации, связанной с дыхательной и сердечной деятельностью, а также, во избежание подсыхания коры мозжечка. Все опыты проведены в соответствии с принципами Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996).

Метод регистрации и идентификации клеток Пуркинье. Внеклеточное отведение активности клеток Пуркинье осуществляли стеклянными микроэлектродами, заполненными 2,5М раствором NaCl с сопротивлением кончика от 2 до 10 мОм. Индифферентный электрод вкалывался в черепную кость. Усиленный сигнал подавался на экран осциллографа для визуального контроля. В серии экспериментов, связанных с оценкой влияния гармалина на паттерн активности клеток Пуркинье мозжечка, сигнал от усилителя регистрировался на магнитофон. Записи на магнитной ленте через преобразователь импульсов вводились в электронно-вычислительную машину «Электроника ДЗ-28» с целью получения цифровых характеристик импульсной активности клеток Пуркинье. В других сериях экспериментов, связанных с оценкой формы сложного спайка и влияния этанола на импульсную активность клеток Пуркинье, сигнал от усилителя нейронной активности подавался на аналогово-цифровую плату L-791, где он оцифровывался с частотой дискретизации 10 КГц. Идентификация клеток Пуркинье осуществлялась по одновременному наличию простых и сложных спайков в разряде регистрируемой клетки, отражающих синаптическую активацию клеток Пуркинье системами мшистых и лазающих волокон соответственно, а также по наличию депрессии простых спайков после сложного разряда. В серии опытов с введением гармалина и этанола после 10-ти минутной регистрации фоновой активности проводилось медленное внутрибрюшинное введение гармалина (фирма Sigma) из расчета 15 мг/кг или

этаноло в дозе 2г/кг в виде 30% раствора во всех возрастных группах, после чего продолжалась регистрация активности той же клетки Пуркинье в течение 60 мин.

Для оценки двигательной активности подсчитывалось число квадратов, пересеченных животным всеми четырьмя лапами в «открытом поле», которое для взрослых животных представляло собой коробку размером 1м x 1м с высотой бортиков 20 см. Для крысят размер коробки был равен 50 x 50 см с высотой бортиков 10 см. Дно коробки было расчерчено на 25 квадратов в обоих случаях крыса помещалась в центральный квадрат. Наблюдение велось в течение 5 мин.

Обработка данных. В ходе обработки данных, связанных с характеристикой импульсной активности клеток Пуркинье, оценивали среднюю частоту простых и сложных спайков, а также длительность депрессии простых спайков, возникающую вслед за активацией клеток Пуркинье афферентной системой лазающих волокон. Средняя частота простых и сложных спайков вычисляли отдельно за одни и те же промежутки времени, которые составляли от 30 секунд до 1 минуты.

В серии экспериментов, посвященных изучению формы сложного спайка оцифрованный сигнал анализировался в программе «Bioactivity Recorder v. 5.3» (Сибаров, 2007). С помощью данной программы для каждого отдельно взятого сложного спайка вычислялись его длительность, частота и число составляющих его потенциалов действия, а также среднее значение вышеперечисленных показателей для каждой конкретной записи.

В ходе окончательной статистической обработки с помощью программы MS Excel 2002 высчитывалось среднее значение и статистическая ошибка среднего для всех исследованных показателей в пределах каждой возрастной группы животных. Для проверки достоверности различий средних значений использовали парный и двухвыборочный критерии Стьюдента. Различия считались достоверными при  $p \leq 0,05$ . (Ивантер, Коросов, 1992).

## **Результаты исследования**

Интakтные животные. Проведенное сравнительное изучение функционального состояния клеток Пуркинье мозжечка крыс, находящихся на раннем, среднем и позднем сроках постнатального онтогенеза выявило существенные различия в частоте простых спайков и длительности их депрессии, следующей за сложным разрядом. В то же время частота сложных спайков мало отличалась друг от друга во всех трех возрастных группах животных. Было показано, что частота простых спайков с возрастом увеличивалась. Наибольшее значение этого показателя наблюдалось у старых крыс, а наименьшее - в



младшей возрастной группе. Длительность депрессии простых спайков с возрастом, наоборот, уменьшалась и была наибольшей у крысят, а наименьшей - у старых крыс (табл. 1).

Таблица 1

**Возрастные изменения паттерна активности, формы сложного спайка клеток Пуркинье мозжечка и уровня двигательной активности у интактных крыс**

Группа животных	Уровень двигат. акт-ти	Паттерн активности клеток Пуркинье			Форма сложного спайка		
		Частота ПС (имп/с)	Частота СС (имп/с)	Длит. ДПС (мс)	Общая длит. СС (мс)	Частота имп в СС (имп/с)	Число имп. в СС
Крысята (2 нед.)	21,2±2,9*	8,6±1,5*	0,60±0,08	261±46*	6,5±0,3	430±21	3,6±0,1
Взрослые (4-6 мес)	38,2±4,7	29,9±2,7	0,55±0,09	118±19	6,3±0,4	446±29	3,6±0,3
Старые (25-36 мес)	11,7±1,6*	38,8±3,0*	0,65±0,1	60±9*	6,5±0,4	590±45*	4,5±0,3*

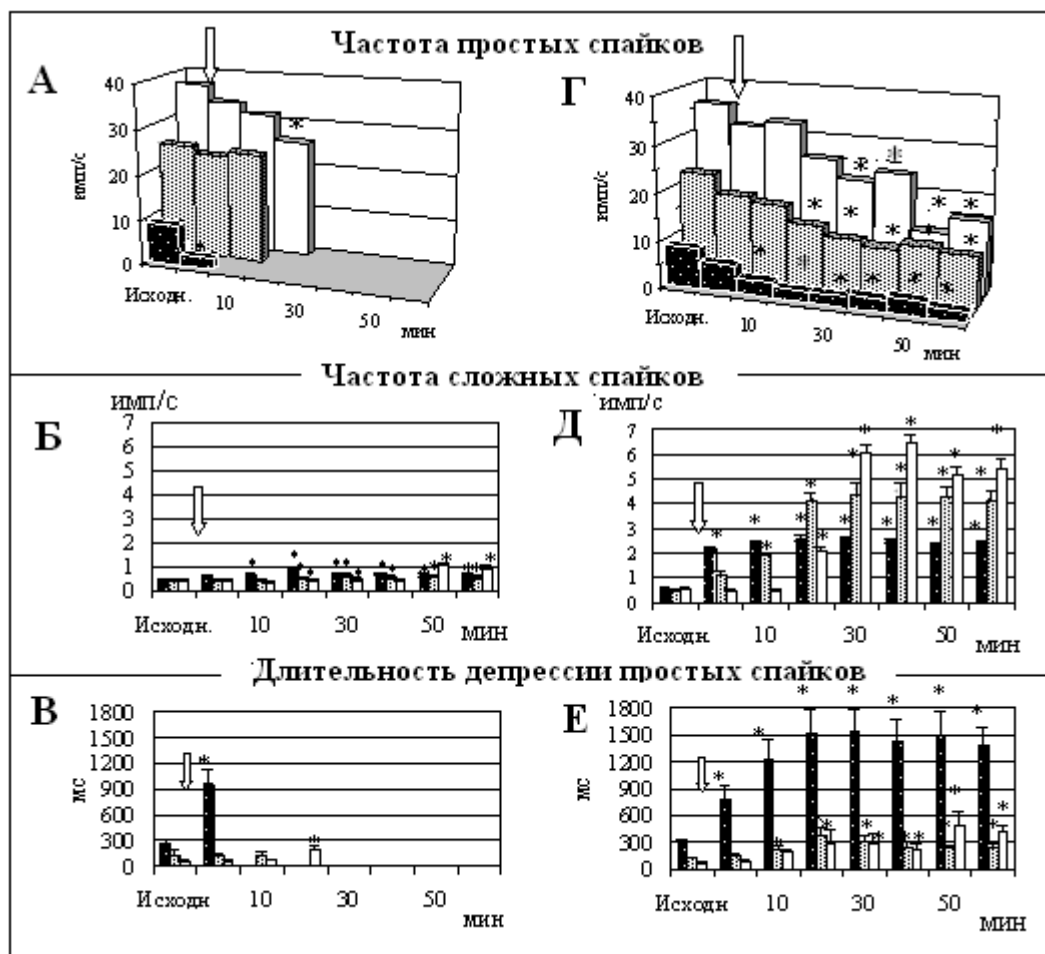
ПС – простые спайки, СС – сложные спайки, ДПС – депрессия простых спайков.

\* - Достоверные отличия по сравнению с взрослыми животными ( $p \leq 0,05$ )

В результате анализа формы сложного спайка у крыс, находящихся на разных стадиях постнатального онтогенеза, обнаружено, что возрастные изменения наблюдаются в двух из трех исследуемых показателей. У старых крыс было установлено достоверное увеличение частоты и числа импульсов, входящих в состав сложного спайка, в то время как отличия исследуемых показателей между возрастными группами двухнедельных и взрослых животных были статистически недостоверны. Длительность сложного спайка оказалась достаточно стабильной величиной на всех исследованных этапах постнатальной жизни.

Изменение функционального состояния клеточных элементов коры мозжечка на разных стадиях постнатальной жизни, которое подтверждалось обнаруженными отличиями в паттерне активности основного элемента – клеток Пуркинье, а также обнаруженные отличия формы сложного спайка, сопровождались изменениями и в уровне моторной активности крыс исследованных возрастов. Этот показатель у двухнедельных крысят еще не достигает взрослого уровня развития, а у старых крыс претерпевает значительное снижение по сравнению с взрослыми животными. Кроме того, на незрелость моторной активности крысят указывает и тот факт, что их походка отличается шаткостью и неустойчивостью, и в ней все еще присутствуют элементы ползания, когда туловище не поддерживается над опорой, а опирается на нее. При этом у животных в этом возрасте еще не вполне сформирована антигравитационная поддержка головы, в результате чего голова периодически лежит на опоре.

**Гармалин.** Реакции клеток Пуркинью мозжечка на внутрибрюшинное введение гармалина во всех возрастных группах были представлены двумя типами (рис.1).



**Рис. 1.** Влияние гармалина на паттерн активности клеток Пуркинью мозжечка крыс разных возрастов. На А, Б, В – первый тип ответов; на Г, Д, Е – второй тип ответов. Черный цвет – крысята, серый – взрослые животные, белый цвет – старые крысы. Стрелкой указан момент введения гармалина. Звездочкой отмечены достоверные отличия от исходного значения ( $p \leq 0,05$ ).

Отличительным критерием разделения служила степень блокирования синаптической передачи импульсации, поступающей по системе мшистых волокон, т.е. степень депрессии простых спайков.

Из 90 зарегистрированных клеток Пуркинью к первому типу ответов были отнесены реакции 42-х клеток. Их ответ на введение гармалина заключался, прежде всего, в значительном увеличении частоты сложных спайков в картине разряда. В результате этого, через некоторое время наступало блокирование передачи информации, поступающей по системе мшистых волокон, приводящее к полному исчезновению простых спайков из картины разряда. Время развития реакции было различным у животных всех возрастных

групп. Так, у крысят исчезновение простых спайков происходило через 3-8 минут после введения гармалина, у взрослых крыс – через 15-20 минут, а у старых животных через 25-30 минут. Достоверные изменения частоты сложных спайков у крысят и взрослых животных наступали уже через 5 минут после введения гармалина, у старых крыс – через 20 мин. При этом максимальное увеличение у крысят, взрослых и старых крыс наблюдалось через 20, 30 и 40 мин соответственно. Длительность депрессии простых спайков, следующей за сложным спайком, в разряде клеток Пуркинье, отнесенных к первому типу реакций на введение гармалина, измерялась до момента исчезновения простых спайков из картины разряда клеток Пуркинье. При этом достоверное увеличение данного показателя у крысят было зарегистрировано через 5 мин после введения гармалина, у старых крыс – через 20 мин, а у взрослых крыс средняя величина данного показателя практически не изменялась.

У 48 клеток, по характеру реакций отнесенных ко второму типу ответов, наблюдалось гораздо меньшее, по сравнению с 1 типом ответов, увеличение частоты сложных спайков, а также увеличение длительности тормозной паузы, следующей за сложным разрядом. Полного исчезновения простых спайков из картины разряда клеток Пуркинье при этом не наблюдалось, хотя имелось достоверное снижение их частоты. Изменения всех показателей активности клеток Пуркинье наступали быстрее всего у крысят, затем у взрослых животных, и, наконец, у старых крыс латентный период был самым длительным. Так, достоверное снижение частоты простых спайков у крысят отмечалось с 10-ой минуты, у взрослых животных – с 20-ой минуты, а у старых крыс – с 40-ой минуты после введения гармалина. Наиболее выраженные изменения этого показателя наблюдались в младшей возрастной группе. У них наименьшее значение частоты простых спайков, которое отмечалось через 30 мин после введения гармалина, было в 4 раза ниже нормы. Самое слабое изменение частоты простых спайков наблюдалось в группе взрослых животных. Максимальное снижение, зафиксированное через 40 мин после введения гармалина, у животных этой возрастной группы было ниже нормы в 2 раза. В старшей возрастной группе исходный уровень частоты простых спайков был в 3 раза выше, чем через 50 мин после введения гармалина. Изменение частоты сложных спайков у клеток Пуркинье, отнесенных ко второму типу реакции были не столь выражены и наступали позднее, чем у клеток Пуркинье, отнесенных к первому типу реакций. Достоверные изменения данного показателя быстрее всего наступали у крысят и наблюдались через 30 мин после введения гармалина. У взрослых крыс – через 40 мин и у старых животных – через 50 мин. Увеличение длительности депрессии простых спайков в разряде клеток Пуркинье, отнесенных ко второму типу ответов, как и других показателей паттерна активности, быстрее всего наступало у крысят, а позже – у старых крыс. При этом превышение максимального значения данного показателя над нормой было сильнее

выраженным у старых животных – в 6,7 раза, чуть ниже у крысят – в 5,5 раза и самое маленькое превышение наблюдалось в группе взрослых крыс – в 3,1 раза.

При детальном анализе изменений формы сложного спайка под влиянием гармалина было показано, что у крысят и старых животных наблюдалось увеличение всех исследуемых показателей. У взрослых крыс форма сложного спайка оказалась довольно устойчивой к воздействию гармалина. В этой возрастной группе животных хотя и наблюдалось увеличение всех трех исследуемых показателей, однако оно не достигало достоверного отличия от нормы. У крысят достоверные изменения всех трех показателей наблюдались через 10, 20 и 30 мин после введения гармалина. При этом длительность сложного спайка и число импульсов, входящих в его состав, и через 40 мин продолжали оставаться достоверно выше нормы. Следует отметить, что максимальное увеличение частоты импульсов в составе сложного спайка было выше нормы на 20%, числа импульсов – на 83%, а длительности сложного спайка – на 73%. У старых животных достоверные отличия наступали позднее, чем у крысят и были менее выраженными. Так максимальное увеличение частоты импульсов в составе сложного спайка составило 16%, длительности сложного спайка – 20%, а числа импульсов -37% (табл.2).

**Таблица 2**

**Влияние гармалина на показатели, характеризующие форму сложного спайка в разряде клеток Пуркинье мозжечка крыс на разных стадиях онтогенеза.**

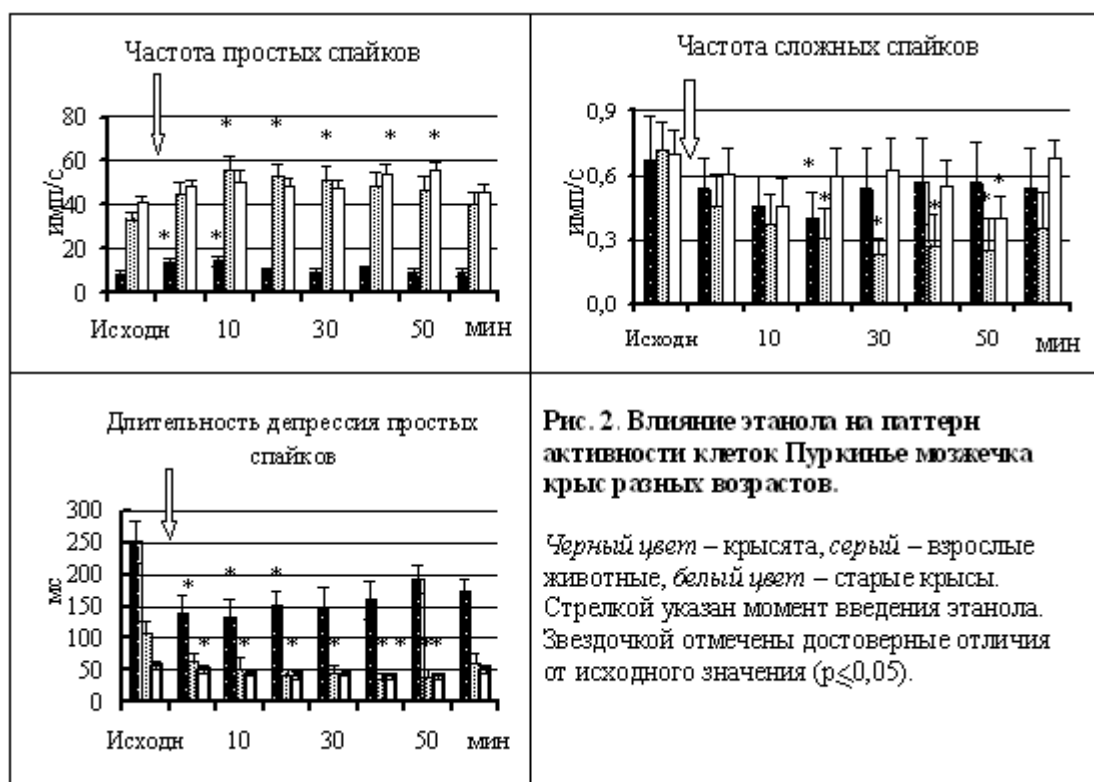
	Крысята			Взрослые			Старые		
	Длит. СС	Число ПД	Част. ПД	Длит. СС	Число ПД	Част. ПД	Длит. СС	Число ПД	Част. ПД
<b>Исходн</b>	6,2±0,4	3,6±0,1	457±35	6,4±0,7	3,6±0,3	461±19	6,7±0,4	4,6±0,4	602±43
<b>5 мин</b>	8,0±0,7	4,7±0,6	489±36	5,1±0,2	3,4±0,3	517±60	6,9±0,4	4,8±0,5	642±53
<b>10 мин</b>	8,6±0,7*	5,1±0,6*	547±44*	5,9±0,6	3,7±0,3	526±44	6,7±0,2	4,7±0,3	596±33
<b>20 мин</b>	10,7±1,0*	6,7±0,9*	526±44*	5,2±0,6	3,5±0,2	457±58	6,5±0,4	4,1±0,3	556±48
<b>30 мин</b>	8,9±0,8*	5,3±0,5*	506±45*	6,9±0,5	4,3±0,3	576±50	6,3±1,0	4,7±0,3	646±74
<b>40 мин</b>	9,5±1,2*	5,5±1,0*	515±33	5,0±0,6	3,5±0,2	551±81	6,8±0,4	6,1±0,5*	698±32*
<b>50 мин</b>	7,9±0,8	4,2±0,3	465±40	5,3±1,5	4,0±0,4	551±85	8,1±0,2*	6,3±0,3*	596±63
<b>60 мин</b>	7,6±0,5	3,9±0,2	442±40	5,3±1,0	3,4±0,2	548±98	7,2±0,4	4,5±0,1	565±69

\*- достоверные отличия от исходного значения ( $p \leq 0,05$ )

Внутрибрюшинное введение гармалина вызывало появление мышечного тремора во всех возрастных группах животных. Следует отметить, что время между введением гармалина и появлением тремора отличалось друг от друга у животных разных возрастов. У крысят тремор появлялся уже через 3-5 мин после введения гармалина, у взрослых крыс – через 10-15 минут, а у старых животных через 20-30 минут. При оценке уровня моторной активности

было обнаружено существенное снижение данной величины после введения гармалина. Среднее значение числа пересеченных квадратов после введения гармалина у крысят снижалось в 5,5 раз, у старых крыс – в 4,3 раза, а у взрослых животных - в 2,4 раза. Т.о. наибольшая степень снижения уровня локомоции наблюдалось у крысят и старых животных, т.е. в тех возрастных группах, где отмечалось большее изменение паттерна активности клеток Пуркинье и формы сложного спайка.

**Этанол.** Характер изменений паттерна активности клеток Пуркинье под влиянием этанола имел общую направленность во всех трех возрастных группах животных и в целом был противоположен изменениям, полученным в серии экспериментов с введением гармалина. Было установлено, что у животных всех исследованных возрастов введение этанола приводит к увеличению частоты и уменьшению длительности депрессии простых спайков, а также к уменьшению частоты сложных спайков (рис.2). Временная последовательность



изменений была такой же, как и в случае с гармалином. Раньше всех на введение этанола реагировали крысята, затем взрослые животные и самыми последними – старые.

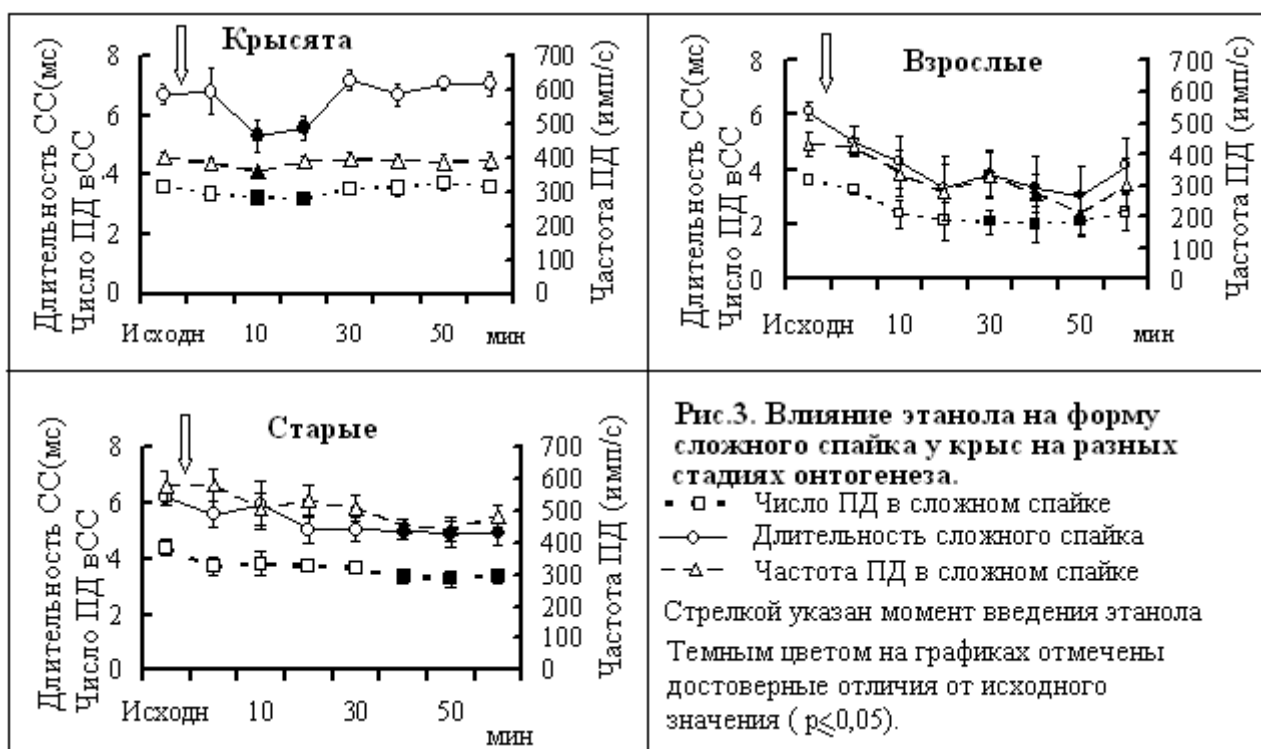
В младшей возрастной группе частота простых спайков в разряде клеток Пуркинье мозжечка была увеличенной через 5 и 10 минут после введения этанола. Превышение значения данного показателя над нормой составило около 60% - 70%. У взрослых животных увеличение среднего значения частоты простых спайков было зафиксировано через 10 – 30 мин после введения этанола. Максимальное увеличение среднего значения данного

параметра, которое наблюдалось через 10 мин после введения этанола, было выше нормы на 66%. У старых крыс частота простых спайков начинала увеличиваться только через 40 мин и продолжала достоверно отличаться от нормы и через 50 мин после введения этанола. При этом увеличение среднего значения данного показателя по сравнению с нормой составило 32%.

Снижение частоты сложных спайков во всех возрастных группах происходило позже, чем увеличение частоты простых спайков. У крысят достоверное изменение средней величины данного показателя было зарегистрировано только через 20 мин после введения этанола. Оно было ниже нормы на 40%. У взрослых крыс частота разряда клеток Пуркинье сложными спайками была ниже нормы, начиная с 20 мин и до конца периода регистрации, т.е. до 60 мин после введения этанола. Минимальная частота сложных спайков в этой возрастной группе была зарегистрирована через 30 мин после введения этанола и была ниже нормы на 68%. У старых животных изменение частоты сложных спайков было зафиксировано еще позже – только через 50 мин после введения этанола. В этот период среднее значение данного показателя было ниже нормы на 43%.

Изменение длительности депрессии простых спайков, наблюдаемой вслед за возникновением сложного спайка, во всех трех возрастных группах животных начиналось одновременно с изменением частоты простых спайков. Данное явление у крысят начиналось через 5 мин, у взрослых животных – через 10 мин, а у старых крыс – через 40 минут после введения этанола. При этом минимальное значение данного показателя у крысят было ниже нормы на 46%, у взрослых крыс – на 68%, а у старых животных – на 32%.

При исследовании формы сложного спайка в условиях действия этанола было установлено снижение средних значений всех исследованных параметров в трех возрастных группах. При этом было отмечено, что изменение формы сложного спайка у крысят и взрослых животных в целом несколько отставало от изменений паттерна активности клеток Пуркинье, в то время как у старых крыс все показатели изменялись практически одновременно (рис.3). У крысят достоверные изменения параметров, характеризующих форму сложного спайка наблюдались через 10 и 20 мин после введения этанола. При этом максимальное снижение длительности сложного спайка составило 21%, числа потенциалов действия в сложном спайке - 12%, а частоты импульсов в сложном спайке – 20%. У взрослых животных изменение формы сложного спайка под воздействием этанола наблюдалось более длительный период времени, чем у крысят. Так, достоверные отличия в числе импульсов, входящих в состав сложного спайка, и общей длительности сложного спайка наблюдались через 30, 40 и 50 минут после введения этанола. Изменение частоты импульсов наступало несколько позднее, чем других



показателей и регистрировалось через 40 и 50 минут после введения этанола. В момент наибольшего снижения длительность сложного спайка была ниже нормы на 50%, число импульсов – на 44% и частота импульсов в составе сложного спайка – на 52%. У старых крыс изменение формы сложного спайка после введения этанола наступало позже, чем у крысят и взрослых животных и регистрировалось с 40 по 60 минуту. Наибольшее снижение длительности сложного спайка составило 20%, числа импульсов в составе сложного спайка – 34%, а частоты импульсов – 23%.

В серии экспериментов с введением этанола у всех подопытных животных, независимо от возраста, наблюдалось нарушение уровня двигательной активности и шаткость походки. При оценке уровня двигательной активности было отмечено значительное снижение среднего значения данного показателя во всех возрастных группах животных. При этом следует отметить, что в отличие от гармалина, более существенное изменение двигательной активности наблюдалось у взрослых животных. Число пересеченных квадратов в этой возрастной группе был в 6,6 раза ниже нормы, в то время как у крысят – в 3,2 раза, а у старых животных – в 3,5 раза.

Т.о., суммируя все вышесказанное, следует отметить, что быстрее всех на введение этанола реагировали крысята, а позже всех – старые крысы. При этом у взрослых животных достоверные изменения параметров активности клеток Пуркинье и формы сложного спайка сохранялись более длительный период времени и имели больший процент изменения по сравнению с исходным значением, чем у крысят и старых животных. Кроме того, нарушение двигательной активности под влиянием этанола было более выражено у взрослых крыс.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

**Интakтные животные.** В ходе проведенных электрофизиологических исследований функционального состояния клеток Пуркинье мозжечка на разных сроках постнатального онтогенеза у интактных крыс было установлено, что паттерн активности клеток Пуркинье менялся с возрастом животных. Было зарегистрировано увеличение частоты и уменьшение длительности депрессии простых спайков, тогда как частота сложных спайков оставалась практически без изменений. Полученные результаты хорошо согласуются с данными о том, что между длительностью депрессии и предшествующей ей частотой простых спайков имеется отрицательная корреляционная связь (Armstrong, Rawson, 1979). В основе наблюдаемых отличий частоты простых спайков у двухнедельных и старых крыс от взрослых животных имеет место, по всей видимости, не полная зрелость клеточных элементов и связей коры мозжечка у двухнедельных крысят (Altman 1972a; 1972b; 1972c; McKay, Turner, 2005) и регрессионные изменения, наблюдаемые в коре мозжечка старых животных (Huang et al, 1999; Dlugos., Pentney., 1994). Кроме того, полученное нами увеличение частоты и уменьшения длительности депрессии простых спайков у взрослых крыс по сравнению с двухнедельными может объясняться уменьшением длительности рефрактерного периода, следующего за возникновением спайка, которое наблюдается на начальных стадиях онтогенеза (Guan et al, 2006). Уменьшение длительности депрессии простых спайков у старых животных по сравнению с взрослыми, возможно, связано с тем, что в процессе старения снижается плотность корзинчатых клеток (Sturrock, 1989), которые, оказывая тормозное влияние на клетки Пуркинье, вносят свой вклад в длительность депрессии простых спайков (Bloedel, 1972).

Кроме изменения самого паттерна активности клеток Пуркинье мозжечка нами было зарегистрировано и изменение формы сложного спайка в процессе старения. Не так давно было высказано предположение, что в ответе клетки Пуркинье на возбуждение, приходящее по лазающему волокну, принимает участие ВК подтип  $Ca^{2+}$  активируемых  $K^+$  каналов (Edgerton, Reinhart, 2003), при этом экспрессия этих каналов в клетках Пуркинье мозжечка крыс достигает взрослого уровня к концу 2-й недели постнатального развития (Muller et al, 1998). Данные факты в определенной степени позволяют объяснить полученные нами результаты, когда мы не обнаружили отличий в форме сложного спайка между двухнедельными и взрослыми животными. Изменение формы сложного спайка при старении, скорее всего, опосредуется изменением концентрации  $Ca^{2+}$  во внутриклеточной среде за счет нарушения работы  $Ca^{2+}$  каналов на этой стадии онтогенеза (Iwamoto, 2004; Chung et al, 2001 b). Поскольку известно, что для активации ВК каналов необходим определенный уровень концентрации  $Ca^{2+}$  в цитозоле, то его изменения, связанные с



нарушениями работы  $\text{Ca}^{2+}$  каналов, могут приводить к изменению работы ВК каналов, что, в свою очередь, может вносить свой вклад в изменение формы сложного спайка, наблюдаемое нами при старении.

**Гармалин.** Во всех возрастных группах увеличение уровня активации клеток Пуркинье мозжечка системой лазающих волокон за счет введения гармалина (и как следствие увеличение частоты сложных спайков) приводило либо к снижению частоты, либо к полному исчезновению простых спайков из картины разряда клеток Пуркинье. Известно, что соотношение частоты простых и сложных спайков в разряде клеток Пуркинье мозжечка носит реципрокный характер (Ferin et al, 1971; Григорьян, Тарасова, 1982). Увеличение частоты сложных спайков за счет повторной электрической стимуляции лазающих волокон приводило к снижению частоты простых спайков и их исчезновению, тогда как инактивация нижней оливы (источника лазающих волокон), наоборот, заметно повышала частоту простых спайков (Demer, 1985). В исследованиях, выполненных на целом животном и срезах мозжечка было продемонстрировано наличие спонтанной импульсной активности в деафферентированных клетках Пуркинье (Eccles et al, 1967; Raman, Bean, 1999). Это позволило сделать предположение о наличии в клетках Пуркинье внутреннего пейсмекера (Serminara, Rawson, 2004), что может объяснить полученные нами данные о том, что у клеток Пуркинье, отнесенных ко второму типу ответов, частота простых спайков изменяется раньше чем частота сложных. Т.е. можно предположить, что хотя уровень изменения импульсации, приходящей по системе лазающих волокон, не достаточен для увеличения частоты сложных спайков, однако, возможно, что за счет влияния на внутренний пейсмекер, осуществляется снижение частоты простых спайков. У животных всех возрастных групп в наших опытах было установлено увеличение длительности депрессии простых спайков после введения гармалина. Возможно, это связано с увеличением мощности воздействия лазающих волокон, которые, с одной стороны, оказывают тормозное влияние на внутренний пейсмекер, генерирующий простые спайки, а с другой, вызывают инактивацию мембраны дендритов клеток Пуркинье за счет длительной деполяризации (Ekerot, Oscarson, 1981). Механизм действия гармалина до сих пор остается мало изученным. В опытах на мутантных мышях, у которых отсутствовали потенциал-зависимые  $\text{K}^+$  каналы (подтипы Kv3.1 или Kv3.3) было установлено, что для генерации и поддержания тремора, вызванного гармалином, необходим подтип Kv3.3, в то время как подтип Kv3.1 принимает участие в регулировании амплитуды и частоты тремора (McMahon et al, 2004).

Следует отметить, что у крысят и старых животных наблюдалось большее влияние гармалина на активность клеток Пуркинье мозжечка и форму сложного спайка по сравнению с взрослыми животными. Данное явление хорошо согласуется с литературными данными,

указывающими на незрелость мозжечка в ранний период онтогенеза и инволюционные изменения, наблюдаемые в период старения, а так же меньшую лабильностью нервной системы на ранних сроках онтогенеза по сравнению с более поздними стадиями развития.

Этанол. При исследовании действия этанола на паттерн активности клеток Пуркинье мозжечка крыс всех трех возрастных групп в наших опытах отмечалось увеличение частоты и укорочение длительности депрессии простых спайков, которое сопровождалось снижением частоты сложных спайков. Полученные нами данные, с одной стороны, находятся в согласии с рядом литературных данных, указывающих на возбуждающее действие этанола, оказываемое на клетки Пуркинье, активируемые системой мшистых волокон (Григорьян, Исмаилов 1987; Servais et al, 2007; Cebolla et al, 2009). С другой стороны, было показано, что в больших дозах этанол оказывает тормозное влияние на спонтанную активность клеток Пуркинье (Eidelberg et al, 1971; Chu, 1983). Одним из мест действия этанола является оливо-мозжечковая система. Было показано, что введение этанола блокирует тремор, вызванный гармалином, при этом отмечается снижение частоты спонтанных и вызванных стимуляцией сенсорной коры сложных спайков в клетках Пуркинье мозжечка (Sinclair, 1982; Harris, Sinclair, 1984; Rappaport et al, 1984). Несколько позже было уточнено, что мишенью для этанола являются метаботропные глутаматные рецепторы, расположенные постсинаптически в синапсе лазающее волокно-клетка Пуркинье (Carta et al, 2006). Таким образом, снижение мощного активирующего действия, оказываемого на клетку Пуркинье афферентными лазающими волокнами за счет введения этанола, может привести к полученному в наших опытах увеличению частоты и уменьшению длительности депрессии простых спайков.

В серии опытов, проведенной с целью изучения влияния этанола на форму сложного спайка, было установлено снижение средних значений всех исследованных параметров. Уменьшение общей длительности и числа потенциалов действия в составе сложного спайка может быть связано с установленным фактом, что этанол влияет на позднюю фазу сложного спайка, а именно уменьшается площадь, занимаемая плато деполяризации, на котором возникают малые потенциалы действия, при этом он не влияет на начальную фазу –  $\text{Na}^+$ -спайк (Carta et al, 2006). В опытах на мышах, чьи матери получали этанол во время беременности, было продемонстрировано укорочение длительностей сложного спайка и депрессии простых спайков, следующей за ним (Cebolla et al, 2009).

Полученные нами данные указывают, что из всех исследованных возрастных групп животных более сильное влияние этанол оказывал на взрослых крыс. У них достоверные изменения паттерна активности и формы сложного спайка наблюдались более длительный период времени и имели больший процент изменения по сравнению с нормой. Отчасти

данный эффект этанола может быть вызван тем, что при введении одинаковых доз этанола у животных с большим весом наблюдается большая концентрация этанола в крови по сравнению с животными с меньшим весом. (Bloom et al, 1982). С другой стороны, различная чувствительность животных, находящихся на разных стадиях онтогенетического развития, вполне вероятно может определяться особенностями соотношения возбуждающих и тормозных влияний, оказываемых на клетки Пуркинье на данных стадиях онтогенеза.

**Двигательная активность.** Изменение паттерна активности клеток Пуркинье мозжечка и формы сложного спайка у крыс разных возрастов сопровождалось изменением уровня двигательной активности животных. Повышение ее уровня у взрослых животных по сравнению с двухнедельными крысами, по всей видимости, связано с участием зрительного анализатора в двигательной активности, которое начинает проявляться с момента открытия глаз на 15-16 сутки постнатальной жизни, что находит свое отражение в паттерне активности клеток Пуркинье мозжечка (Григорьян и др. 2003). Другие авторы показывают, что сложные локомоторные акты, требующие точной согласованности и тонкой моторной координации, появляются у крыс только после 30 суток постнатальной жизни (Petrosini. et al, 1990), что соответствует времени морфологического и функционального созревания клеток Пуркинье (McKay, Turner, 2005; Олейник, Григорьян, 1998). В проведенных нами опытах у старых крыс уровень моторной активности был значительно ниже, чем у взрослых, что сопровождалось изменением паттерна активности клеток Пуркинье и формы сложного спайка. Подобная картина прослеживается и по литературным данным. При исследовании поведенческих нарушений у старых крыс в первую очередь было отмечено постепенное снижение уровня локомоции и исследовательского поведения, тогда как нарушения координации и равновесия наблюдались в более поздний период. (Altun et al, 2007; Schulz, 2007).

Действие, как этанола, так и гармалина выражалось в снижении уровня двигательной активности крыс всех возрастов, причем в случае гармалина более сильные изменения наблюдались у крысят и старых животных, а в случае этанола – у взрослых крыс. Данные результаты совпадают с изменением паттерна активности клеток Пуркинье, когда под влиянием гармалина наиболее сильные изменения отмечались у крысят и старых животных, а в случае этанола – у взрослых крыс. Более сильное действие этанола, оказываемое на взрослых животных по сравнению с молодыми было получено и в опытах, когда исследовалось влияние этанола на координацию движений (White et al, 2002). Снижение уровня локомоторной активности под влиянием гармалина отмечается и при введении повторных доз взрослым крысам, тогда как его треморогенный эффект исчезает (Wang., Fowler, 2001).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что, наблюдаемые в процессе созревания и последующего старения изменения электрофизиологических свойств клеток Пуркинье как у интактных животных, так и в условиях действия таких веществ как гармалин и этанол сопровождаются изменением мозжечок-зависимого поведения, в частности, уровня моторной активности. Сходные результаты были получены в работах, выполненных и на ранних сроках постнатального онтогенеза как зрелорождающихся (морские свинки), так и на представителях незрелорождающихся животных (кошки, крысы) (Григорьян. и др. 2003).

### **Выводы**

1. Обнаруженные возрастные изменения частоты и длительности депрессии простых спайков клеток Пуркинье мозжечка у интактных крыс свидетельствуют о повышении синаптической активации системой мшистых волокон, тогда как активация системой лазающих волокон на исследованных этапах онтогенеза крыс меняется незначительно.
2. Форма сложного спайка в разряде клеток Пуркинье мозжечка у двухнедельных крысят соответствует взрослой стадии развития. В процессе старения форма сложного спайка изменяется за счет увеличения числа и частоты малых потенциалов действия в его составе, без изменения его длительности.
3. Гармалин повышает эффективность синаптической активации клеток Пуркинье системой лазающих волокон. Это сопровождается повышением частоты сложных спайков и снижением частоты и увеличением длительности депрессии простых спайков. Наряду с этим гармалин изменяет форму сложного спайка за счет увеличения его длительности, числа и частоты малых потенциалов действия в его составе. Этот эффект более четко выражен на ранней и поздней стадиях онтогенеза.
4. Этанол, наоборот, снижает эффективность синаптической активации клеток Пуркинье системой лазающих волокон. В результате этого уменьшается длительность депрессии и повышается частота простых спайков. Этанол, подавляет все параметры, характеризующие форму сложного спайка. Его токсическое действие более выражено у взрослых животных.
5. Гармалин и этанол изменяют уровень двигательной активности в большей степени тех возрастных групп животных, у которых более четко изменялся частотный спектр активности клеток Пуркинье и форма сложного спайка.
6. Изменения частотного спектра активности клеток Пуркинье и корреляты двигательной активности, обнаруженные у крысят, взрослых и старых животных, являются указанием на разный характер взаимодействия возбуждающих и тормозных процессов в коре мозжечка у животных разного возраста и могут служить базисом менее успешного выполнения моторных актов в ранний и поздний периоды онтогенеза.

### Список основных публикаций по теме диссертации

#### Статьи

1. Grigorian R., Prigarina E., Olejnick T., **Tchaban T.** Maturation of the stato-kinetic reflexes and activity of the cerebellar Purkinje cells in Guinea Pigs, Rats and Kittens: Role of the eye opening time// Vestibular and Neural Front. Amsterdam. 1994. P. 175-79.
2. **Чабан Т. В.**, Григорьян Р.А. Активность клеток Пуркинье мозжечка молодых и взрослых крыс в условиях гипокальциемии// Журнал эвол. биохим. и физиол. 1998. Т. 34. С. 670 - 674.
3. **Чабан Т.В.** Изменение активности клеток Пуркинье мозжечка у паратиреоидэктомированных крыс разного возраста// Труды победителей конкурса грантов 1998 года для студентов, аспирантов и молодых ученых Санкт-Петербурга, направление «Биология». Санкт-Петербург. 1998. С. 236-237.
4. Григорьян Р.А., Пригарина Э.И., Олейник Т.Л., **Карелина Т.В.** Функциональная роль клеток Пуркинье мозжечка в онтогенезе позно-моторных реакций у зрело- и незрелорождающихся. млекопитающих// Журнал эвол. биохим. и физиол. 2003. Т.39. С. 559-567.
5. Григорьян Р.А., Магеррамов А.А., Пригарина Э.И., Олейник Т.Л., **Карелина Т.В.** О влиянии физико-химического фактора на работу клеток Пуркинье мозжечка в поздний периоды постнатального развития// Медико-биологические аспекты действия физических факторов. Минск. 2006. С. 223-226.
6. **Карелина Т.В.** Влияние гармалина на паттерн активности клеток Пуркинье мозжечка крыс в онтогенезе// Журнал эвол. биохим. и физиол. 2008. Т.44. С. 78-83.
7. Григорьян Р.А., Пригарина Э.И., Олейник Т.Л., **Карелина Т.В.** Действие гармалина на длительность сложного спайка и величину депрессии простых спайков в разряде клеток Пуркинье мозжечка в постнатальном онтогенезе зрело- и незрелорождающихся животных// Международная научная конференция «Актуальные проблемы интегративной деятельности и пластичности нервной системы». Ереван. 2009. С. 341-349.
8. **Карелина Т.В.**, Григорьян Р.А. Влияние гармалина на форму сложного спайка и время депрессии в разряде клеток Пуркинье мозжечка в постнатальном онтогенезе крыс// Журнал эвол. биохим. и физиол. 2010. Т.46. С. 218-224.

#### Тезисы

1. Grigorian R.A., **Tchaban T.V.**, E.I.Prigarina. Sensitivity of cerebellar Purkinje cells to Harmaline in young Wistar rats// 15-th European Neuroscience Association Meeting. Munich, 1992. P. 217.
2. Григорьян Р.А., **Чабан Т.В.**, Пригарина Э.И.. Активность клеток Пуркинье мозжечка молодых и старых крыс под влиянием гармалина// 1 Съезд физиологов России. Москва, 1993.
3. Григорьян Р.А., Пригарина Э.И., **Чабан Т.В.**, Олейник Т.Л. Стато-кинетические рефлексy и активность клеток Пуркинье мозжечка в онтогенезе зрело- и незрелорождающихся животных// I (XI) международное совещание по эволюционной физиологии. Санкт-Петербург, 1996. С.194.
4. Grigorian R.A., **Tchaban T.V.**, Kireev V.V. The cerebellar Purkinje cells activity in young and adult rats in condition of reduced blood calcium level// 11th Biennial Meeting of the International Society for Developmental Neuroscience. Tampere, Finland. Int. J. of Devel. Neuroscience. 1996. V. 14, Suppl. N1. P.90.
5. Grigorian R., Prigarina E., Tchaban T. Olejnick T. Stato-Kinetic reflexes and activity of cerebellar Purkinje cells in mature and immature born animals// 11<sup>th</sup> Biennial Meeting of the

- International Society for Developmental Neuroscience. Tampere, Finland Int. J. of Devel. Neuroscience. 1996.V. 14. - Suppl. N1. P.90.
6. Grigorian R., Prigarina E., **Tchaban T.**, Olejnick T. Sequence of events in development of posture-motor reflexes and the activity of cerebellar Purkinje cells in mature and altricial animals// Int. Symposium "Brain and movement". St-Petersburg-Moscow, 1997. P. 83.
  7. Grigorian R., Prigarina E., Olejnick T., **Tchaban T.**, Kireev V. Inhibitory pause in simple spikes firing of cerebellar Purkinje cells and formation of some motor reflexes in ontogenesis// Abstr of 28<sup>th</sup> Annual Meeting Society for Neuroscience. Miami, 1999. V. 25. P. 373.
  8. **Tchaban T.**, Grigorian R.,. The duration of inhibitory pause in rat cerebellar Purkinje cells discharges under conditions of reduced blood calcium level: age related data// Abstr of 30<sup>th</sup> Annual Meeting Society for Neuroscience. New Orleans, 2000. V. 26. P. 1986.
  9. Grigorian R.A., Prigarina E.I., **Tchaban T.V.** Efficacy of activation of cerebellar Purkinje cells by mossy and climbing fiber input and maturation of lift reaction in Guinea pigs// Abstr of 31<sup>st</sup> Annual Meeting of American Society for Neurosci. San Diego, 2001. Abstr. № 70.11.
  10. **Tchaban T.**, Grigorian R. The firing pattern of guinea pig cerebellar Purkinje cells under reduced blood calcium concentration// Abstr. of 31<sup>st</sup> Annual Meeting of American Society for Neuroscience. San Diego, 2001. Abstr № 516.3.
  11. Grigorian R., Prigarina E., Olejnick T., **Tchaban T.** Correlation between simple and complex spikes in cerebellar Purkinje cells discharge and maturation of motor reactions in guinea pigs, rats and kittens// Abstr. of 32<sup>th</sup> Annual Meeting of American Society for Neuroscience. Orlando, 2002. Abstr №360.16.
  12. Григорьян Р.А., Пригарина Э.И., Олейник Т.Л., **Карелина Т.В.**, Киреев В.В. Соотношение частот разряда простых и сложных спайков в активности клеток Пуркинье мозжечка как показатель зрелости моторного поведения морских свинок, крыс и котят// Сб. трудов I-го съезда физиологов СНГ. Сочи-Дагомыс, 2005. С. 36.
  13. **Карелина Т.В.**, Григорьян Р.А. Влияние гармалина на частоту простых и сложных спайков в разряде клеток Пуркинье мозжечка крыс в онтогенезе// XIII Междунар. Собрание по эволюционной физиологии Тез. докладов. С-Петербург, 2006. С. 99.
  14. Григорьян Р.А., Пригарина Э.И., Олейник Т.Л., **Карелина Т.В.** Функция клеток Пуркинье мозжечка в контроле статико-кинетиических рефлексов у зрело- и незрелорождающихся// Труды XX Съезда Российского Физиологического Общества им. И.П. Павлова. М., 2007. С. 203.
  15. **Карелина Т.В.**, Григорьян Р.А. Возрастные изменения в длительности депрессии фоновоактивных клеток Пуркинье мозжечка крыс// II съезд физиологов СНГ. Кишинев, 2008. С.63.
  16. **Карелина Т.В.**, Григорьян Р.А. Влияние гармалина на форму сложного спайка в разряде клеток Пуркинье мозжечка крыс: постнатальный онтогенез// Научное наследие академика Л.А.Орбели. Структурные и функциональные основы эволюции функций, физиология экстремальных состояний. Санкт-Петербург, 2008. С. 66.
  17. **Карелина Т.В.** Влияние этанола на характер разряда клеток Пуркинье мозжечка крыс в онтогенезе// VII Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 160-летию со дня рождения И.П.Павлова «Механизмы функционирования висцеральных систем». Санкт-Петербург, 2009. С. 188.
  18. **Карелина Т.В.** Изменения уровня локомоции и функционального состояния клеток Пуркинье мозжечка крыс на разных стадиях онтогенеза// II Всероссийская с международным участием конференция по управлению движением. Великие Луки, 2010. С. 87.