

Казанский (Приволжский) федеральный университет
Институт фундаментальной медицины и биологии

На правах рукописи

Митрухина Ольга Борисовна

**Формирование функциональных соматотопических зон в
коре головного мозга крыс во время критического
периода развития**

03.03.01 - физиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
Минлебаев Марат Гусманович,
кандидат медицинских наук

Казань, 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

1. ВВЕДЕНИЕ	4
2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
2.1 Ранние паттерны электрической активности коры головного мозга.....	13
2.2 Исследование развития мозга на модели грызунов.....	17
2.3 Система "вибрисса - баррель " грызунов в качестве модели для изучения развития соматосенсорной системы.....	19
2.4 Баррельная кора у крыс	20
2.5 Анатомическое развитие баррель-кортекса в течение первой постнатальной недели	21
2.6 Развитие проводящих путей от вибриссы к баррелю.....	24
2.7 Факторы, определяющие развитие и специализацию зон в соматосенсорной системе.....	26
2.8 Критический период и пластичность в развивающемся пути от вибриссы к баррелю	32
2.9 Веретенообразные и гамма-вспышки в соматосенсорной коре	37
2.10 Механизмы ранних сетевых паттернов	42
2.11 Прерывистая временная организация ранней активности.....	50
3 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	60
3.1 Подготовка животных к эксперименту.....	60
3.2 Регистрация внутреннего оптического сигнала.....	61
3.3. Регистрация полевого потенциала	63
3.4. Регистрация внутриклеточной активности.....	65
3.5 Анализ.....	66
3.6 Общая схема исследований.....	68
4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	71
4.1 Характеристика рецептивных полей в баррельной коре новорожденных крыс.....	71
4.2 Постнатальная сегрегация рецептивных полей	80

4.3 Постнатальная сегрегация проекционных полей вибрисс в баррельной коре у новорожденных крысят.....	84
4.4 Сегрегация синаптических входов в процессе развития	90
4.5 Частотное кодирование в баррельной коре новорожденных крыс.....	92
5 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	101
6 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	106
7 ВЫВОДЫ	107
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	109
КРАТКИЙ СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ.....	111
ЛИТЕРАТУРА	112

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования и степень ее разработанности

Одним из основных вопросов нейробиологии развития является вопрос о том, каким образом огромное количество нейронов устанавливает синаптические связи друг с другом, формируя в результате мыслящий мозг. В то время как основная структура нейрональных сетей в определенной мере закодирована в наших генах, активность нейронов на ранних этапах развития вносит не менее важный вклад в процесс формирования специфических и высокофункциональных нейрональных сетей. Большое количество исследований, посвященных изучению роли нейрональной активности в раннем развитии нервной системы, свидетельствует о принципиальной роли коррелированной активности нейронов и синаптической пластичности в этом процессе [178]. При этом особо значима роль активности в развитии нейрональных сетей во время так называемых «критических» периодов развития [98]. Одной из классических моделей критического периода является формирование соматосенсорных зон в коре головного мозга, которое критически зависит от нейрональной активности в соматосенсорной системе, обеспечиваемой активацией сенсорного входа. Так в определенном участке соматосенсорной коры новорожденных мышей и крыс (так называемом барреле), который получает и перерабатывает информацию от соответствующей вибриссы на мордочке животного, устранение сенсорного входа в первые дни после рождения животного (например, путем хирургического удаления фолликула вибриссы) приводит к практически полному исчезновению депривированного барреля. Аналогичная депривация у более взрослых животных не приводит к исчезновению депривированных баррелей, хотя и сопровождается существенными функциональными перестройками в соматосенсорных зонах [332]. Однако, физиологические процессы, лежащие в основе критического периода, остаются малоизученными. В частности, остается открытым вопрос о том, какие паттерны нейрональной

активности задействуются в коре головного мозга новорожденных животных при активации топографических и нетопографических сенсорных входов (основной и соседних вибрисс в случае баррельной коры).

В настоящее время описаны два основных осцилляторных паттерна активности в баррельной коре новорожденных крыс (в течение первой недели после рождения) – гамма-осцилляции и веретенообразные вспышки с доминирующим осцилляторным компонентом в альфа-бета диапазоне [178]. Показано, что гамма-осцилляции возникают в строго топографическом участке соматосенсорной коры при стимуляции соответствующего сенсорного входа – в случае баррельной коры, в соответствующем барреле при стимуляции основной вибриссы. Веретенообразные вспышки характеризуют позднюю часть ответа при стимуляции топографического входа (основной вибриссы), а также являются характерной формой ответа при одновременной стимуляции большого количества сенсорных входов. Важным является то, что гамма-осцилляции вызывают долговременную потенциацию в таламокортикальных синапсах во время критического периода, что предполагает их роль в стабилизации топографически ориентированных таламокортикальных синапсов. В то же время, было показано, что альфа-бета осцилляции вызывают долговременную депрессию, которая считается предшественником последующей элиминации синапсов [219]. Эти наблюдения рождают гипотезу о том, что эти два типа осцилляторных ответов являются инструментами в конкурентных взаимодействиях при формировании соматосенсорных таламокортикальных зон. Однако в то время как роль гамма-осцилляций в кодировании топографических сенсорных входов была показана, вопрос о роли альфа-бета-осцилляций в кодировании нетопографических входов остается открытым.

Другим немаловажным вопросом является соотношение роли нейрональной активности и генетической программы в развитии нейрональных зон. Являются ли специфические ритмы активности основным инструментом формирования зон мозга или они необходимы лишь для окончательной

подстройки уже развивавшихся по своей программе зон? Существуют две основные модели раннего формирования соматосенсорных зон во время критического периода. Модель “tabula rasa” предполагает, что изначально строгого порядка в образующихся синаптических связях нет. При этом количество связей сперва избыточно, а последующее упорядочивание нейрональной сети обусловлено конкуренцией между пресинаптическими нейронами за клетки-мишени с подавлением и устранением нетопографических связей, а также усилением и стабилизацией топографических связей. Альтернативная модель предполагает, что с самого начала нейрональные связи устанавливаются строго упорядоченным образом, с помощью специальных молекулярных гидов, обеспечивающих прорастание аксонов в строго заданные участки нервной системы и формирование специфических контактов с клетками-мишенями. При этом нейрональной активности отводится роль функциональной проверки изначально топографически собранных сетей [98]. Интересно, что обе эти модели имеют существенную экспериментальную доказательную базу, опирающуюся в основном на морфологические данные. Однако, какая из этих двух моделей применима в случае формирования соматотопических зон в коре головного мозга во время критического периода, остается неизвестным. Центральным для решения этой проблемы остается вопрос о том, какова организация соматотопических зон в самом начале критического периода – строго топографическая, как в случае модели генетической предопределенности, либо диффузная, как в случае модели “tabula rasa”.

Цели и задачи исследования

Целью данного исследования являлось изучение процессов и инструментов формирования функциональных соматотопических зон в коре головного мозга новорожденных крыс во время критического периода развития таламокортикальных связей.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

1. Определить, является ли функциональное состояние соматосенсорных зон в самом начале критического периода, т.е. в первые дни после рождения, строго топографичным или диффузным.
2. Охарактеризовать возрастные изменения в уровне топографичности функциональных соматосенсорных зон во время критического периода и сравнить эти изменения с формированием морфологических соматосенсорных зон.
3. Охарактеризовать паттерны электрографической сенсорно-вызванной активности в соматосенсорной коре головного мозга новорожденных крыс в области представительства вибрисс во время критического периода формирования соматосенсорных зон – первой недели после рождения.
4. Описать различия в паттернах активности, вызываемых топографическим и нетопографическим сенсорными входами у новорожденных крыс.

Научная новизна работы

Впервые охарактеризовано функциональное состояние соматосенсорной коры головного мозга крыс во время раннего критического периода. Показано, что ответы, вызываемые стимуляцией соседних вибрисс, значительно перекрываются, что является доказательством изначально диффузной функциональной организации соматосенсорной коры и свидетельствует о конкурентных механизмах в формировании топографических соматосенсорных зон. Впервые показано, что формирование функциональных соматотопических зон в коре головного мозга крыс во время критического периода происходит параллельно с формированием морфологических соматосенсорных зон. Впервые показано, что во время позднего критического периода топографические и нетопографические сенсорные входы кодируются соответственно гамма- и альфа-бета-осцилляциями, что предполагает

противоположную роль этих осцилляций в синаптической пластичности – стабилизации топографических таламокортикальных синапсов и устранении нетопографических синапсов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Основное значение результатов проведенных исследований состоит в получении новых данных о физиологических процессах, лежащих в основе формирования соматосенсорных зон в коре головного мозга во время критического периода их развития. Обнаруженная диффузная организация ответов, вызываемых стимуляцией вибрисс, и значительное перекрытие этих ответов в самом начале критического периода свидетельствует об изначально диффузной функциональной организации соматосенсорных зон. Обнаруженное частотное кодирование топографических и нетопографических сенсорных входов во время позднего критического периода предполагает различную роль осцилляций, в зависимости от их частоты, в процессах синаптической пластичности – потенциации топографических синапсов гамма-осцилляциями и подавлении нетопографических синапсов альфа-бета-осцилляциями. В совокупности, полученные результаты подтверждают модель развития соматосенсорной коры, в которой нейрональная активность, вызываемая сенсорной стимуляцией, обеспечивает условия для формирования топографических соматосенсорных зон посредством конкурентных взаимодействий между сенсорными входами в их борьбе за кортикальные территории во время критического периода развития таламокортикальных связей. Поскольку в естественных условиях сенсорная стимуляция, как это было показано ранее, обеспечивается в значительной степени посредством сенсорной реафферентации, возникающей в результате спонтанных движений [183], полученные результаты также являются свидетельством важной физиологической роли спонтанной двигательной активности в развитии соматосенсорного анализатора. Этот механизм может быть наиболее значимым в процессе развития нервной системы у человека, поскольку соответствующий

описанному в настоящем исследовании период развития у человека протекает внутриутробно, в условиях практически полной соматосенсорной депривации.

Полученные нами данные имеют важное значение для понимания функционирования и диагностики нарушений в центральной нервной системе человека на ранних этапах развития – во время внутриутробного развития, а также у недоношенных новорожденных. В то время как предыдущие исследования на животных моделях уже легли в основу протоколов нейрофизиологических исследований сенсорных систем у недоношенных новорожденных в возрасте, соответствующем третьему триместру гестации [178], наши исследования на крысах раннего постнатального периода предполагают значительные особенности в вызванных соматосенсорных потенциалах (ВССП) у недоношенных новорожденных человека на более ранних гестационных возрастах, соответствующих середине беременности, а именно: (1) уникальный электрографический фенотип ВССП в виде длительных дельта-волн, (2) длительную задержку между периферическим стимулом и ответом в соматосенсорной коре, (3) сравнительно малую топографичность ВССП, (4) быструю утомляемость соматосенсорных ответов. На основании этих данных можно дать ряд практических рекомендаций для клинических нейрофизиологов при анализе активности соматосенсорной коры у ранних недоношенных на гестационных сроках 20-25 недель, а именно: учитывать особенности электрографического фенотипа ВССП, проводить регистрацию ЭЭГ с минимальным фильтрованием на низких частотах, а при стимуляции обеспечивать длительные интервалы между стимулами для избежания утомления ответов.

Также наши исследования имеют практическое значение: в клинических условиях они могут помочь в создании инструментов для диагностики и лечения врожденных и приобретенных дисфункций головного мозга (например, при инсультах, когда участок ткани мозга теряет свою функциональность в результате острого нарушения мозгового кровообращения и, как следствие,

некротизации ткани, можно стимулировать переориентацию потерянных функций и связей на соседние неповрежденные участки коры головного мозга).

Методология и методы исследования

Мы исследовали электрическую активность *in vivo*, возникающую в кортикальных колонках баррельного кортекса соматосенсорной зоны новорожденных крысят в ответ на стимуляцию вибрисс на мордочке животных в первую неделю после рождения (P0-7). Для регистрации внеклеточной электрической активности использовались многоканальные электроды на кремниевой подложке, а для внутриклеточной регистрации от отдельных нейронов использовались стеклянные пипетки (метод пэтч-клампа).

Положения, выносимые на защиту

- В соматосенсорной баррельной коре крыс во время раннего критического периода новорожденных (P0-1) сенсорная стимуляция вибрисс вызывает диффузные ответы в виде дельта-волн с обширными проекционными полями одиночных вибрисс и со значительным перекрытием зон, активируемых соседними вибриссами.

- Переход от диффузного состояния функциональной организации зон в соматосенсорной баррельной коре к строго топографической организации происходит прогрессивно в течение первой недели после рождения параллельно с формированием морфологических соматосенсорных зон.

- Во время позднего критического периода новорожденных (P3-7) сенсорно-вызванные ответы характеризуются вспышками осцилляторной активности в гамма- и альфа-бета-частотных диапазонах, при этом гамма-осцилляции специфически кодируют активность топографических сенсорных входов, а альфа-бета-осцилляции кодируют интегративную активность нетопографических сенсорных входов.

Личный вклад диссертанта в исследования

Приведенные в работе данные получены при личном участии соискателя на всех этапах работы, включая составление плана исследования, проведение экспериментов, обработку полученных данных и оформление публикаций.

Достоверность полученных данных

Достоверность полученных данных основана на большом объеме результатов экспериментальных исследований с использованием адекватных методических подходов и статистической обработки полученных результатов.

Апробация результатов

Материалы работы представлены на Международной научной конференции Средиземноморского института нейробиологии «Journées Inmed» (Сент-Рафаэль, Франция, 2012); Международном симпозиуме "Молекулярные механизмы регуляции синаптической передачи" (Киев, Украина, 2012); Всероссийской с международным участием школе-конференции «Физиологические механизмы адаптации растущего организма» (Яльчик, 2012); Международном форуме нейробиологии FENS (Милан, Италия, 2014).

Работа выполнена при поддержке грантом РФФИ № 13-04-01237, грантом Правительства РФ ведущим ученым №11.G34.31.0075, а также программой конкурентного развития Казанского федерального университета.

Реализация результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе - 4 статьи в рецензируемых журналах (из списка ВАК).

Структура и объём диссертации

Диссертация изложена на 144 страницах; состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования, их обсуждения, заключения, выводов, списка сокращений и

условных обозначений, краткого словаря терминов и списка литературы; иллюстрирована 45 рисунками и 2 таблицами. Список цитируемой литературы содержит 342 источника, из них 342 - иностранных авторов.

2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1 Ранние паттерны электрической активности коры головного мозга

Развитие мозга представляет собой чрезвычайно динамический процесс, включающий происходящие во времени комплексные изменения формы и структуры мозга. Период вынашивания плода у человека характеризуется рядом фундаментальных событий в построении нервной системы, так что к моменту рождения большинство первичных нейронных цепей уже сформированы и полноценно функционируют, хотя образование связей между нейронами продолжается и после рождения, достигая максимальной интенсивности в ранний период постнатального развития и детства, что отражается в увеличении плотности синаптических контактов, наблюдаемом в этом возрасте [158].

У людей в течение 4 недель после зачатия (от 26 до 56 дней) головной мозг проходит развитие от однослойной нейроэпителиальной трубки до очень сложной трехмерной структуры с уже сформированными основными отделами [247]. После рождения миелинизация белого вещества происходит очень быстро и достигает показателей взрослого организма уже к концу второго года [275]. К трем годам размер мозга ребенка достигает 87% от взрослого мозга [83]. Нормальное развитие мозга контролируется поступающими из окружающей среды стимулами, и взаимодействие ребенка с окружающей средой помогает формированию внутри- и межкортикальных связей, что в итоге приводит к формированию высокоспециализированного взрослого мозга.

Нейроны обрабатывают и передают информацию в форме электрических сигналов. Эта электрическая активность служит отражением активного состояния нейронов мозга. Стандартным методом описания электрической активности мозга является регистрация электрических сигналов с поверхности головы с помощью электроэнцефалографии (ЭЭГ), но такой метод не может

использоваться по отношению к еще не родившемуся плоду (хотя предпринимались попытки записывать ЭЭГ и МЭГ (магнитоэнцефалограммы) плода через брюшную стенку матери). В настоящее время основным подходом к регистрации активности мозга плода является регистрация ЭЭГ с поверхности головы недоношенных детей. У данной группы пациентов, содержащихся в специализированных боксах интенсивной терапии, мониторинг нейрофизиологических параметров является частью наблюдения за их состоянием. Разумеется, окружающая среда при этом сильно отличается от естественных условий, и функции многих систем (сердечнососудистой, дыхательной и пищеварительной) претерпевают существенное развитие после рождения, что ставит вопрос о правомерности приравнивания кортикальной активности недоношенных детей к таковой у плодов внутри утробы. По многим аспектам, ответ на данный вопрос будет положителен, т.к. развитие ЭЭГ по большей части зависит от возраста, а регистрируемые у недоношенных детей паттерны ЭЭГ соответствуют возрасту гестации, а не возрасту от рождения. Более того, исследования с регистрацией МЭГ у плода, находящегося внутри утробы, подтверждают существенное сходство временной организации мозговой активности с электрографическими паттернами, наблюдаемыми у соответствующих по возрасту гестации недоношенных детей. Поэтому ЭЭГ регистрация недоношенных детей считается в настоящее время надежным подходом для оценки функционирования мозга плода. Уже больше половины столетия регистрация ЭЭГ повсеместно используется для измерения и изучения созревания мозга у недоношенных и доношенных младенцев [11, 301, 306].

Характерные паттерны ЭЭГ в постнатальный период, вплоть до возраста 30 лет, существенно видоизменяются как по амплитуде, так и по частотному диапазону осцилляций [236, 310]. Так, для ЭЭГ недоношенных детей характерны уникальные паттерны активности. Они состоят из ряда отдельных кратковременных периодов ритмической активности, перемежающихся с острыми событиями, выраженными на определенных стадиях развития [10, 190, 278, 296]. В середине гестации активность большей частью представлена

прерывистыми дельта волнами от 0,3 до 2 Гц. К седьмому месяцу беременности, медленные осцилляции начинают перемежаться с быстрой ритмической активностью. Во время второй половины гестации, доминирующим паттерном ЭЭГ в центральной, височной и ростральной областях становятся дельта-браши [11, 178, 216] (Рисунок 1). Эти базовые паттерны описаны под разными названиями: веретенообразные вспышки быстрой активности [95], быстрые ритмы [87, 239, 251], быстрые вспышки [87], веретенообразная быстрая активность [324], быстрая активность в диапазоне 14-24Гц [133] и зыбь (рипплы) недоношенности [96]. Дельта-браш представляет собой веретенообразную ритмическую активность в диапазоне 8-25 Гц, наложенную на дельта-волну с частотой 0,3-1,5 Гц. Спонтанные подергивания рук и ног вызывают появление дельта-брашей в соответствующих областях коры. Прямая стимуляция рук и ног также вызывает дельта-браши в соответствующих областях коры [216].

Зачастую дельта-браши следуют друг за другом, и такая последовательность сгруппированных дельта-брашей может длиться до 10 с, вызывая так называемые транзиенты медленной активности (ТМА), которые при прямой парной регистрации достигают больших амплитуд, вплоть до 800 мкВ [315, 316]. Такие смещения потенциала теряются при стандартной высокочастотной фильтрации ЭЭГ ($>0,5$ -1Гц). Дельта-браши встречаются во всех зонах коры, но с возрастом исчезают. Несмотря на некоторое сходство с сонными веретенами, которые появляются только на второй месяц после рождения, дельта-браши являются самостоятельным паттерном активности.

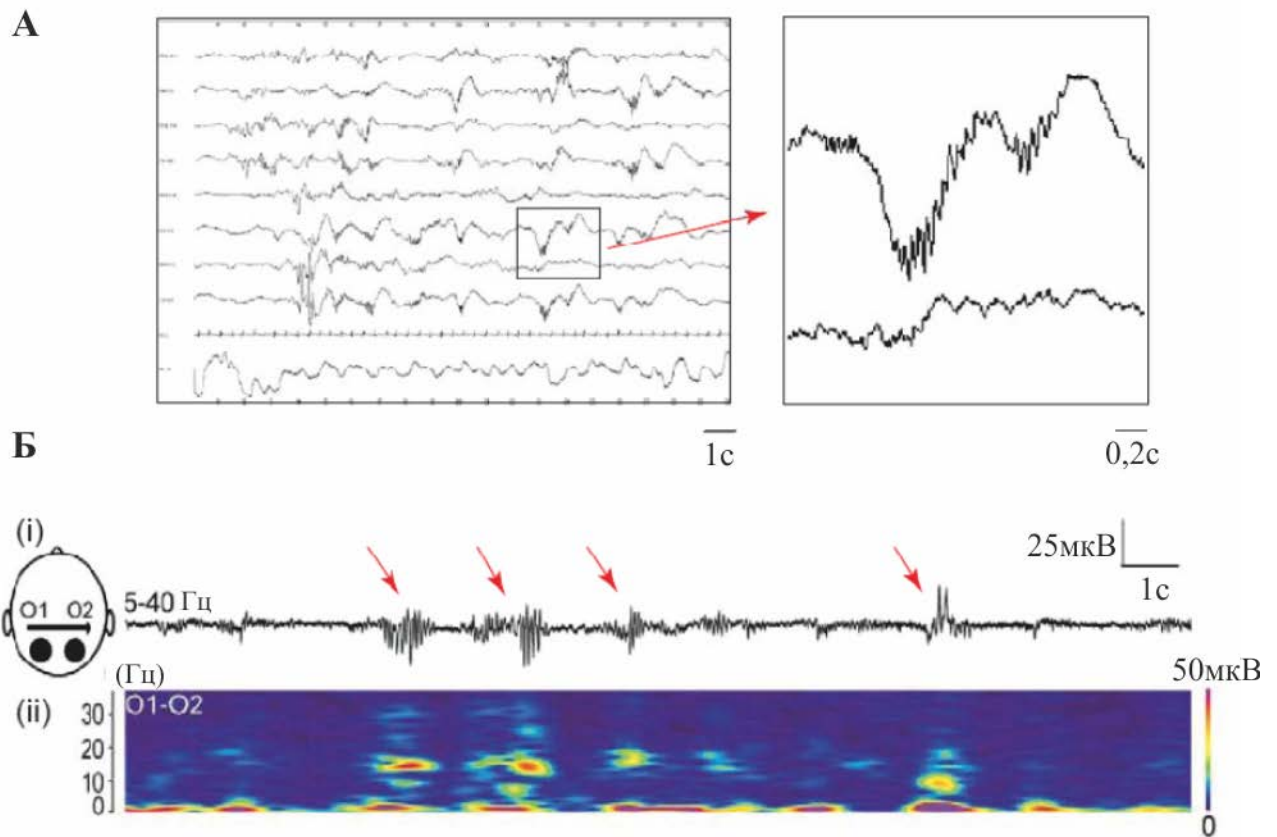


Рисунок 1 - ЭЭГ недоношенных детей: прерывистая активность и дельта-браши

(А) ЭЭГ, зарегистрированная у 33-недельного недоношенного ребенка во время спокойного сна. Активность характеризуется прерывистой временной организацией, где чередуются эпизоды активности и периоды тишины. Типичные паттерны активности - дельта-волны (1-3 Гц), на которые зачастую накладываются высокочастотные осцилляции - дельта-браши (пример дельта-браша представлен справа на развернутой временной шкале). (Б) (i) Биполярная затылочная (O1-O2) регистрация активности зрительной коры у недоношенного ребенка (полоса фильтрации 5-40 Гц). Красными стрелками отмечены дельта-браши. (ii) Частотно-временной анализ данных, приведенных в (i). Видно, как низкочастотная активность (дельта-волны) совпадают с высокочастотной активностью во время дельта-брашей [178].

Помимо дельта-брашей. в мозге недоношенных детей встречаются и другие паттерны активности: неонатальные «дельта-гребни» (изолированные

фронтально-полярные дельта-волны, совмещенные с быстрой активностью), срединные фронтальные тета-альфа вспышки, ЭЭГ спайки и острые транзиенты, антериальная медленная дизритмия, височные зубчатые или височные тета-вспышки [10, 190, 278, 296]. Поскольку практически вся информация о ранних кортикальных паттернах у людей получена при регистрации ЭЭГ с поверхности головы недоношенных детей, эти наблюдения, взятые в отдельности, не могут сказать, является ли данная активность патологией незрелого мозга или нормальным физиологическим паттерном развивающихся нейрональных сетей. Чтобы выяснить данный вопрос, необходима одновременная регистрация потенциалов действия (ПД) нейронов и ЭЭГ в интактной развивающейся ткани.

2.2 Исследование развития мозга на модели грызунов

По понятным причинам механизмы развития мозга невозможно исследовать на недоношенных детях, поэтому ученые проводят исследования на грызунах. Чаще всего используются крысы и мыши.

Короткий период гестации (22,5 дня у крыс и 19,5 дней у мышей), а также досконально изученные и описанные макро- и микро-нейроанатомия, нейрофизиология и поведение делают этих грызунов идеальной исследовательской моделью [61]. Для генетических манипуляций чаще используют мышей, так как последствия этих манипуляций хорошо видны в их внешнем облике. Потомство у крыс и мышей рождается беспомощным, в незрелом состоянии. Хотя трудно проводить непосредственные параллели между людьми и грызунами, уровень развития мозга крысы в момент рождения (P0) может, с некоторыми допущениями, быть приравнен состоянию коры человеческого эмбриона в середине гестации, а момент рождения у человека соответствует постнатальному дню P12 у крысы или мыши. В связи с этим, новорожденные грызуны могут служить отличной моделью для изучения событий, происходящих во время внутриутробного периода развития человека.

Однако, несмотря на богатый репертуар паттернов активности, наблюдаемых у недоношенных детей во второй половине гестационного периода, до недавнего времени не было описано организованной мозговой активности у грызунов в первые 10 дней после рождения. На основе ЭЭГ регистрации считалось, что кортикальная активность новорожденных грызунов начинается в возрасте P11 с распространения дельта-волн [121, 135, 169]. Это не стыкуется с рядом паттернов коррелированной активности, обнаруженной в неонатальных кортикальных срезах *in vitro* [8]. Необходимо отметить, что регистрация активности у новорожденных крыс связана с некоторыми техническими сложностями: кости черепа в этот период еще хрящеподобные, что затрудняет достижение механически стабильной, свободной от вызываемых движениями артефактов регистрации. Эта проблема решалась по ходу развития методики регистрации активности от обездвиженной с помощью зубного цемента и усиленной таким образом области головы, сперва под анестезией [198], а позже и на неанестезированных [179] и децеребрированных крысятах [172]. В настоящее время эта технология широко используется на новорожденных крысятах для интракортикальной регистрации локальных полевых потенциалов (ЛПП) и множественной нейрональной активности (МНА) с использованием ряда электродов, патч-кламп (внутриклеточной) регистрации отдельных нейронов и визуализации [63, 224, 289, 338]. Использование данной технологии позволило описать у новорожденных крысят ряд паттернов активности, проявляющих удивительное сходство с активностью, наблюдаемой у недоношенных детей человека, а также исследовать лежащие в их основе механизмы. Эти паттерны до сих пор тщательно исследовались только в сенсорной коре (главным образом, соматосенсорной и зрительной), а также в гиппокампе.

2.3 Система "вибрисса - баррель" грызунов в качестве модели для изучения развития соматосенсорной системы

Отличной системной моделью для изучения ранней кортикальной активности в период развития, соответствующий стадии развития недоношенных новорожденных человека, служит баррельная кора новорожденных грызунов.

Грызуны для получения тактильной информации пользуются особыми подвижными тактильными волокнами, или вибриссами (*pili tactiles, vibrissae*), резко выдающимися над общим меховым покровом в области конца морды. Грызуны используют свои вибриссы, чтобы исследовать окружающую среду, находить объекты и различать их поверхности, выстраивая таким образом пространственное представление окружающего пространства [312].

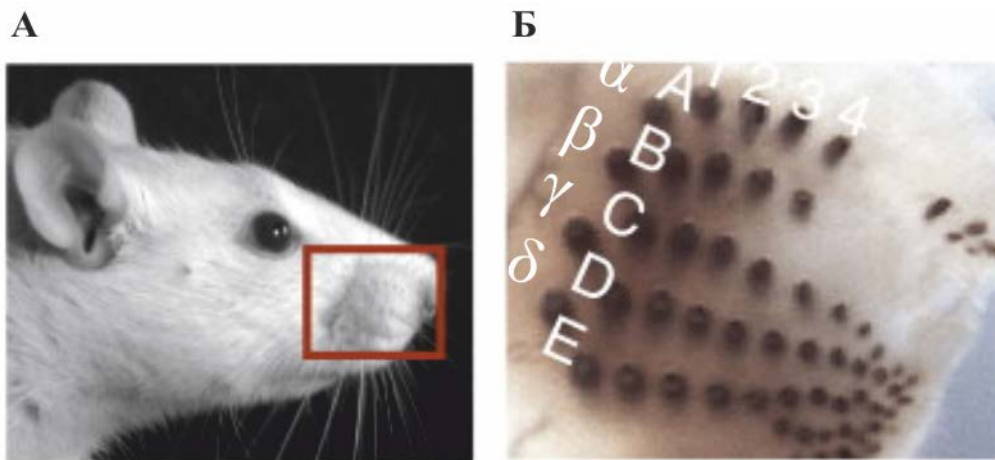


Рисунок 2 - Расположение вибрисс на морде крысы

(А) Красным прямоугольником на морде крысы выделена область с подвижными вибриссами. (Б) Уплощенный препарат области морды, на котором отчетливо видно 5 рядов (А-Е), от 4 и более арок, а также α , β , γ , δ вибриссы [312].

На морде крыс и мышей 5 рядов (А-Е) вибрисс: в двух верхних рядах (А-В) по 4 уса, а в трех нижних - по 7. Вертикально вибриссы образуют 4 и более

арк. Помимо этого, в каудальной части морды есть еще 4 шире отстоящие друг от друга вибриссы (альфа, бета, гамма, дельта) (Рисунок 2). Мышцы области морды с подвижными вибриссами делятся на внешние (основания которых находятся вне этой области) и внутренние (не выходящие за её пределы), все они иннервируются ответвлениями лицевого нерва [147]. Грызуны могут двигать как всеми вибриссами целиком, так и отдельными рядами и вибриссами [39]. Когда грызуны двигают вибриссами, касаясь объекта, тактильная информация детектируется механорецепторами внутри фолликулов, а затем передается по инфраорбитальному нерву (ИОН) в ствол мозга. Далее этот сенсорный сигнал передается в таламус и наконец достигает баррельной коры. На каждом уровне пути обнаруживаются изоморфические образования групп нейрональных клеток, отражающих расположение вибрисс на мордочке. В первичном тригеминальном ядре ствола мозга (PrV) это баррелетты, в вентробазальном таламическом ядре (VPM) - баррелоиды, и в первичной соматосенсорной коре (S1) - наиболее заметные баррели (Рисунок 6А).

2.4 Баррельная кора у крыс

В 1970 году Томас Вулси и Хэндрик Ван дер Лус впервые описали обнаруженные в соматосенсорной коре мышей бочковидные структуры и назвали их баррелями [334]. Баррельная кора – это участок соматосенсорной коры, получающий сенсорные входы от вибрисс. Кора состоит из 6 слоев, при этом большая часть сенсорной информации от вибрисс поступает в четвертый слой. Баррели, которые и дали баррельной коре название, располагаются именно в IV слое (Рисунок 3). Если сделать тангенциальный срез через IV слой, можно увидеть характерный рисунок бочковидных структур баррелей. Расположение баррелей повторяет расположение вибрисс на мордочке животного, при этом каждой вибриссе соответствует один баррель (Рисунок 3В).

Каждый баррель состоит из морфологически и функционально связанной группы нейронов, которые вертикально распределены вдоль границ слоев, в кортикальной колонке. Кортикальные колонки - фундаментальный элемент кортикальной структуры. Четко организованный баррель-кортекс является подходящей и многообещающей системой для изучения обработки сенсорной информации в пределах кортикальной колонки, а также для корреляции исследовательского поведения путем активного шевеления вибриссами и нейрональной активности в пределах четко очерченной кортикальной зоны [256].

Использование баррель-кортекса грызунов в качестве модели для изучения сетевых нейрональных механизмов, лежащих в основе структурной организации, пластичности и развития неокортикальной колонки, предоставляет целый ряд уникальных преимуществ. Во-первых, кортикальную колонку в баррель-кортексе легко идентифицировать *in vivo* [110] и в неокрашенных срезах мозга *in vitro* [264, 122]. Во-вторых, сенсорную периферию можно подвергать различным манипуляциям, а подрезанные вибриссы могут отрасти [108]. В-третьих, отдельные типы нейрональных клеток, расположенные в выбранном слое коры четко различимой кортикальной колонки баррель-кортекса мыши, можно подвергать генетическим манипуляциям по специфическим генам [15]. В-четвертых, можно отслеживать и манипулировать отдельным нейроном в определенной баррель-колонке *in vivo* [21].

2.5 Анатомическое развитие баррель-кортекса в течение первой постнатальной недели

В течение первой постнатальной недели баррель-кортекс претерпевает быстрое развитие. Что касается изменений в строении слоев коры, в момент рождения сформированы V и VI слои, в возрасте P3 (P0 - день рождения) четко различим IV слой, а на P4 появляются II и III слои. Миграция клеток внутри

коры у крыс завершается к концу первой постнатальной недели. На рисунке 4 схематично изображено раннее прорастание таламокортикальных аксонов (ТКА) из дорзального таламуса на E13 и E16, а внизу приведена детальная схема прорастания аксонов в коре от E13 до P8. ТКА изначально прорастают через вентральный таламус, затем поворачивают латерально и пересекают границу между промежуточным и конечным мозгом (DTB). Таламокортикальные аксоны и ранние кортикофугальные аксоны достигают вентрального региона конечного мозга одновременно и, вероятно, взаимодействуют друг с другом.

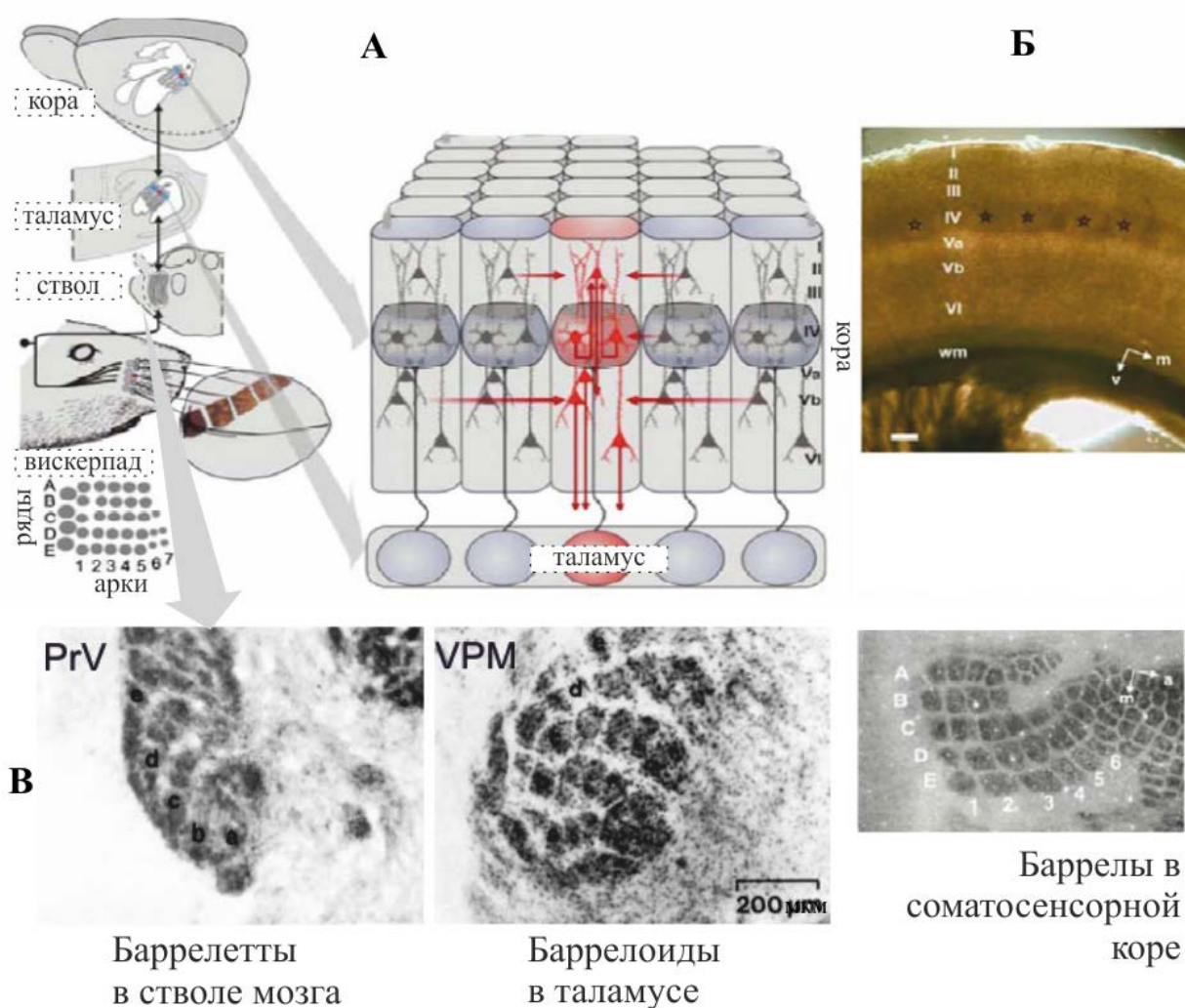


Рисунок 3 – Баррельная система крыс

(А) Анатомические компоненты пути от вибриссы к баррелю. (Б) Корональный срез баррельной коры. В IV слое хорошо различимы баррели (отмечены звездочками) и все кортикальные слои (римская нумерация),

которые по вертикали формируют баррель-колонку. Масштаб 200 μm ; a - anterior, m - medial, v - ventral. (B) Срезы через первичное тригеминальное ядро ствола мозга (PrV), вентробазальное таламическое ядро (VPM) и первичную соматосенсорную кору (S1) взрослых крыс, окрашенные цитохромксидазой.

Баррелетты, баррелоиды и баррели пронумерованы по стандартной номенклатуре. Фотографии окрашенных цитохром оксидазой срезов PrV ствола мозга и VPM таламуса взяты из статьи Henderson et al., 1992 [147].

К возрасту E16 таламокортикальные аксоны пересекают паллиально-субпаллиальную (мантийно-субмантийную) границу (PSPB) и достигают коры, где тангенсально разрастаются в промежуточной зоне (IZ). В это время начинается разделение коры на слои, кортикальная пластинка (CP) расслаивается на маргинальную зону (MZ) и субпластинку (SP). Между E18 и P2 боковые отростки таламокортикальных аксонов прорастают в более поверхностные районы коры [233] сначала взаимодействуя с SP, а затем прорастая в IV слой. В этот период радиальная миграция нейронов заполняет кору, формируя гранулярный и супрагранулярные слои. К возрасту P8 ТКА фактически представляют зрелые образования: отростки формируются в VI слое, но основная часть синаптических контактов находится в IV слое [260].

Мишень прорастающих таламических афферентов у крыс также меняется в течение первой постнатальной недели в связи с развитием слоистой структуры. В день рождения (P0) таламокортикальные аксоны разрастаются радиально внутри VI и V слоев, а некоторые аксоны даже достигают CP. На протяжении следующих нескольких дней внутри CP появляется еще больше отростков аксонов. К P7 отдельные аксоны перекрываются внутри бочонковидных кластеров, расширяя эти кластеры [49]. Использование окрашивания коры DiI [97, 53] и ацетилхолинэстеразой [279] показало, что таламические афференты представляют соматотопические паттерны уже к концу первых суток после рождения (P0-1), что позволяет предположить, что

таламические афференты, достигая коры, изначально несут в себе информацию о паттернах.

Рисунок 4 - Схематическая диаграмма, иллюстрирующая развитие таламокортикальных афферентов (ТКА) грызунов в промежутке между 13 днем внутриутробного (E13) и 8 днем после рождения (P8)

DTB - конечный мозг, PSPB - паллиально-субпаллиальная (мантийно-субмантийная) граница, IZ - промежуточная зона, CP - кортикальная пластинка, MZ - маргинальная зона, SP - субпластинка, PP - препластинка; SVZ/VZ, субвентрикулярная зона/вентрикулярная зона; I, II, III, IV, V, VI 1–6 кортикальные слои; WM - белое вещество [260].

2.6 Развитие проводящих путей от вибриссы к баррелю

Все вибриссы на морде грызунов иннервируются инфраорбитальным нервом (ION), который является верхнечелюстной ветвью тройничного нерва. Центральные аксоны нейронов ганглия тройничного нерва (TG) передают информацию от вибрисс в ядра тройничного нерва, находящиеся в стволе мозга. Одно из этих ядер - основное сенсорное ядро тройничного нерва (PrV),

играет главную роль в передаче сенсорной информации от вибрисс в вентро-постерио-медиальное ядро (VPM) контрлатерального таламуса [176]. На каждом уровне центральной нервной системы вдоль сенсорного пути от вибрисс афферентные терминали образуют вибрисса-специфичные пути. После кластеризации пресинаптических афферентов дендриты клеток баррелетт в стволе мозга, баррелоидов в таламусе и баррелей в коре образуют специфические паттерны. Причем формирование этих паттернов происходит последовательно от периферии к стволу мозга, таламусу и неокортексу в течение первых нескольких дней после рождения [280] (Рисунок 5).

Вибрисса-специфичные паттерны в продолговатом мозге появляются на 19-20 день эмбрионального развития (E19-20) у крыс [55, 318] и на P0 (при рождении) у мышей [208]. Для нейронов баррелеттов характерны поляризованная асимметричная ориентация дендритного дерева и вибрисса-специфичный паттерн. Эти небольшие по диаметру клетки получают моносинаптический возбуждающий и дисинаптический тормозящий входы при стимуляции тройничного нерва [200]. Клетки баррелеттов проецируют сенсорную информацию из ядра тройничного нерва в таламус. Их аксоны направляются контрлатерально и формируют тригеминальный лемниск, который достигает VPM таламуса к возрасту E17 у мышей. Эти афференты с самого начала образуют широкие разветвления внутри VPM и постепенно, на протяжении первых нескольких дней после рождения формируются сперва в криволинейные колонки, соответствующие рядам вибрисс на мордочке животного, а затем сегментируются на колонки, соответствующие отдельным вибриссам [187]. Клеточные паттерны (баррелоиды) дублируют афферентные паттерны и гистологически обнаруживаются в таламусе в возрасте P3 (Рисунок 5). В отличие от VPM таламуса, где дифференцированному паттерну ветвления отростков предшествует диффузная организация, афференты, восходящие от PrV продолговатого мозга и нисходящие от баррельной коры, топографичны с самого начала [195, 50, 3, 318, 281, 263].

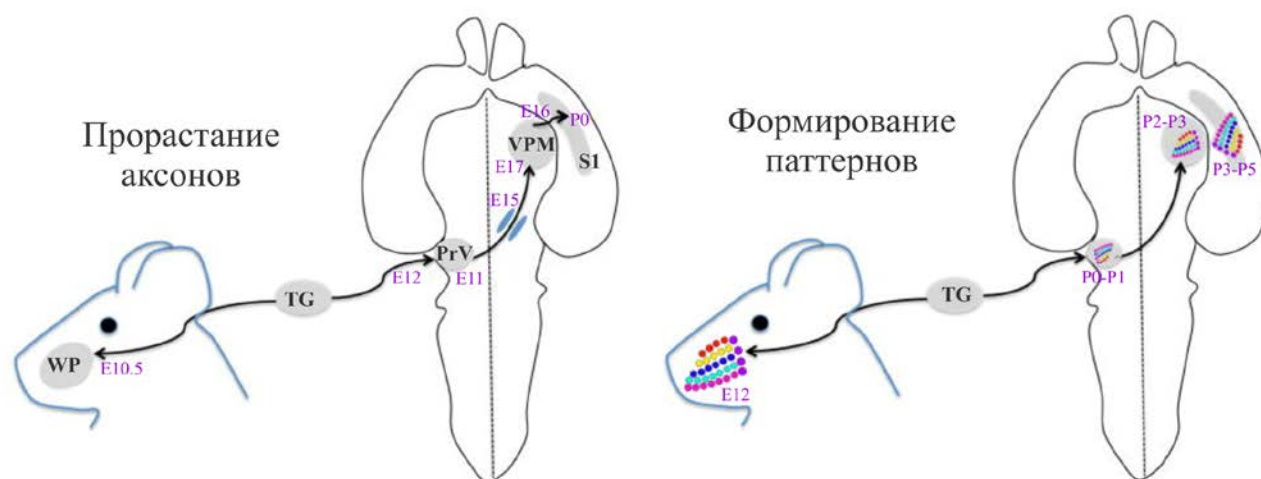


Рисунок 5 - Схематичное изображение времени прорастания афферентов вдоль пути "вибрисса-баррель", а также появления аксональных и клеточных паттернов

Примечание: WP – область морды с подвижными вибриссами, TG – ганглий тройничного нерва, PrV - основное чувствительное ядро тройничного нерва, VPM - вентро-постерио-медиальное ядро таламуса, S1 –первичная соматосенсорная кора, ION – инфраорбитальный нерв (верхнечелюстная ветвь тройничного нерва) (из Erzurumlu & Gaspar, 2012) [98].

2.7 Факторы, определяющие развитие и специализацию зон в соматосенсорной системе

В экспериментах с одновременным окрашиванием таламокортикальных аксонов (ТКА), серотонинергических отростков от ядра шва к коре, постсинаптических клеток и экстраклеточных элементов было показано, что вибрисса-специфичные паттерны сперва появляются у разветвлений отростков ТКА, а затем уже у всех остальных элементов [97, 34, 167]. Вибрисса-специфичный паттерн таламокортикальных терминалей устанавливается в первые три дня после рождения: сперва формируются ряды, затем они распадаются на представительства отдельных фолликулов вибрисс [266, 97, 281, 263, 196]. Раннее образование паттернов ТКА зависит от сенсорной периферии, что было продемонстрировано на перинатальных грызунах в

экспериментах с депривацией [332, 93, 23, 79, 166, 186]. Более того, у линии мышей, имеющих избыточное количество вибрисс на морде, в соматосенсорной коре образовывались соответствующие дополнительные баррели [310, 325]. Эти и другие доказательства, такие как, например, перенаправление зрительных путей в слуховую или в соматосенсорную кору [215, 297, 270, 248], свидетельствуют в пользу того, что спецификация участков неокортекса определяется прорастающими в кору таламическими афферентами [244, 241]. Еще одним примером периферического контроля образования центральных паттернов служат недавние исследования, проведенные на *EphA4*-нокаутированных мышах: у них не вырабатываются эфрины, которые в норме экспрессируются по градиенту вдоль развивающейся области подвижных вибрисс, и как следствие, отсутствует часть вентропостериальных фолликулов; при этом соответствующие баррелы в каудальной части рядов D и E также не развиваются, как и соответствующие подкорковые паттерны [238].

Спецификация кортикальных зон также генетически запрограммирована внутри самого неокортекса: разнообразные исследования развивающейся новой коры с генетическими манипуляциями и выявлением молекулярных профилей указывают на наличие сложного взаимодействия различных морфогенетических и транскрипционных факторов, влияющих на локализацию, ориентацию и размеры кортикальных зон. Например, было обнаружено что в нейронах IV слоя соматосенсорной коры специфично экспрессируется β -галактозидаза, причем экспрессия кодирующего ее гена *H-2Z1* не требует сенсорной информации с периферии [62, 132]. Также в коре экспрессируются различные сигнальные молекулы (фактор роста фибробластов 8, морфогенетические костные белки, соник-хэджхок и др.), которые определяют топологические координаты коры и положение будущих территорий чувствительных и двигательных таламокортикальных проекций [298, 283, 242]. Например, фактор роста фибробластов 8 в норме экспрессируется в передней комиссуральной пластинке, если же при помощи электропорации *in utero* ввести этот ген в

заднюю кору, то это приводит к развитию зеркально отображенных, частично дублированных зон баррельной коры [124].

В то время как кортикальные территории предопределяются прорастающими ТКА и сопровождающими их молекулами, главную роль в образовании паттернов сенсорных зон в коре играет нейрональная активность. Сообщение между ТКА и их постсинаптическими паттернами осуществляется через глутаматергическую нейрональную передачу, регулируется моноаминами (такими, как серотонин, или 5-НТ), а также подвергается ГАМКергическому тормозному влиянию локальных нейрональных сетей [102]. Различные виды манипуляций с сенсорной периферией во время критического периода развития приводят к пластическим изменениям в размере и паттернах пресинаптических и постсинаптических элементов баррельной коры.

В ранних исследованиях фармакологическое блокирование потенциалов действия или НМДА-рецепторов в неокортексе или в ИОН не выявило эффектов на образование кортикальных паттернов [56, 147, 279]. Однако более поздние эксперименты с фармакологической блокадой показали существенные изменения в чувствительности нейронов баррелей к стимуляции единичных вибрисс и функциональной организации кортикальных колонок [115], а также в морфологической целостности баррелей [220]. Несмотря на противоречивые результаты фармакологических исследований, наши современные представления о роли активности в формировании баррелей основываются на исследованиях с целенаправленными генными манипуляциями на мышах.

Генетические исследования на мышах с потерей функций НМДА-рецепторов, метаботропных глутаматных рецепторов и измененным уровнем 5-НТ (серотонина) в коре выявили, что это приводит к образованию дефектных фенотипов баррельной коры [102, 99, 159, 334].

Селективная потеря гена *NRI* в возбуждающих кортикальных нейронах генетически блокирует НМДА-рецепторную активность в неокортексе [163]. У этих мутантов (*CxNRI*-нокаутированных мышей) вибриссы и все подкорковые вибрисса-связанные паттерны не отличаются от мышей дикого типа, но

баррели как клеточные агрегаты отсутствуют, пропадает направленность дендритного дерева шипиковых звездчатых клеток в IV слое (клеток баррелей), а отростки ТКА формируют избыточно разветвленные деревья, в которых просматривается некоторая кластеризация, представляющая собой рудиментарный вибрисса-специфичный паттерн [163, 75, 196] (Рисунок 6). Сходные изменения наблюдаются у генномодифицированных мышей с дефектами других компонентов глутаматергического пути, таких как метаботропный глутаматный рецептор 5 (Mglu5) и фосфолипаза C- β (PC- β 1) [143, 144, 18] (Рисунок 6).

Увеличение (но не уменьшение) концентрации кортикального 5-НТ также влияет на развитие баррелей [312]. Изначально было обнаружено замедленное образование баррельной коры у крыс при фармакологической блокаде 5-НТ в коре селективным нейротоксином р-хлороамфетамином [34], но более заметный эффект был достигнут в экспериментах на мышах, у которых отключали ген *MAOA*, что приводило к увеличению уровня 5-НТ в 7-9 раз. У *MAOA*-нокаутированных мышей полностью блокировалась сегрегация терминалей ТКА и формирования баррелей не происходило, хотя при этом вибриссы на морде и соответствующие паттерны в стволе мозга и таламусе развивались нормально [48] (Рисунок 6b).

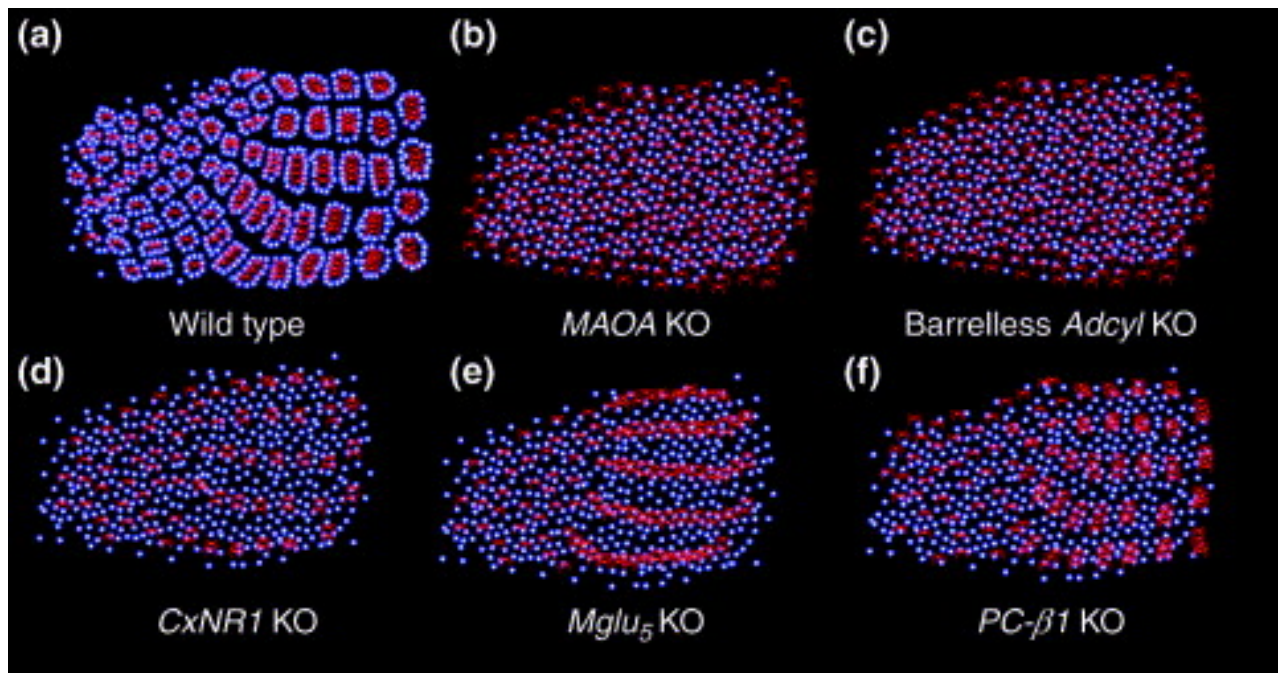


Рисунок 6 - Дефекты развития баррельной коры у нокаутированных по различным генам мышей

Примечание: Красным обозначены ТКА, синим - клетки баррелей [201].

Точная роль 5-НТ в нормальном развитии баррелей до сих пор не ясна. Электрофизиологические исследования на таламокортикальных срезах указывают на сильный тормозной пресинаптический эффект 5-НТ в таламокортикальных синапсах [265, 194]. Однако, фармакологическое или генетическое снижение уровня 5-НТ не оказывает большого влияния на формирование баррелей и приводит лишь к задержке их развития на несколько дней, что может быть связано с замедлением роста и не отражается на длительности пластичности критического периода, который наступает после повреждения фолликулов вибрисс [34, 246, 308].

В 1996 году в Луизиане обнаружили линию мышей с "безбаррельным" фенотипом (*brl*) [324]. Позднее данную спонтанную мутацию определили как встраивание транспозона в ген аденилатциклазы I типа (AC1) [2]. У *brl*-мышей (или *AC1*-нокаутированных мышей) разветвления ТКА шире и клеточные баррели не образуются [324, 131] (Рисунок 6с). Общее нокаутирование гена

AC1 у этих мутантов приводило к дефектам подкорковых паттернов, однако кортекс-специфическое отключение *AC1* не оказывало такого сильного влияния на формирование баррельной коры [164]. Это позволяет предположить, что главной причиной дефектного развития баррельной коры у *brl*-мышей является потеря скорее пресинаптической, чем постсинаптической функции *AC1*.

Структурные и функциональные дефекты баррельной коры также наблюдались у мышей, у которых отсутствует регуляторная субъединица (PKARIIb) протеинкиназы А, сигнальной молекулы в аденилатциклазном пути [160, 323]. У этих мышей дефективная клеточная организация IV слоя коры, а также отсутствует долговременная потенция, однако паттерн ТКА присутствует. Так как PKARIIb локализуется в постсинапсе, наблюдаемые нарушения паттерна подтверждают, что формирование баррелей, которые являются клеточными агрегатами IV слоя коры, может быть нарушено независимо от афферентных паттернов [160, 323].

Вывод о задействовании пресинаптических механизмов в формировании баррелей был сделан на основе исследований на *MAOA* [263], *AC1* [131] и *RIM1 α* [204] нокаутированных мышах. В более поздних работах сравнивали эффекты удаления белков RIM1 и RIM2 (молекул, взаимодействующих с RAB) в таламусе либо в коре [232]. RIM локализуется в активных зонах пресинапса и контролируют экзоцитоз синаптических везикул [84, 170]. Таламус-специфическое удаление RIM1 и RIM2 снижало эффективность нервной передачи на 67%, но не влияло на образование вибрисса-специфичного паттерна ответвлений ТКА, хотя размер кластеров уменьшался [233]. С другой стороны, в отличие от удаления этих белков в коре, таламус-специфичное удаление RIM приводило к развитию безбаррельного фенотипа с измененной дендритной ориентацией нейронов IV слоя.

Таким образом, в таламокортикальном синапсе в формирование баррелей вовлечены как пресинаптические, так и постсинаптические механизмы. Структурные и функциональные дефекты баррелей зачастую являются результатом дефективных паттернов ТКА [334]. Стоит отметить, что не было

обнаружено ни одной мутации, когда у мышей были бы нормально развиты баррели при отсутствии сформированных паттернов ТКА.

2.8 Критический период и пластичность в развивающемся пути от вибриссы к баррелю

Ранний сенсорный опыт формирует морфологическую и функциональную организацию развивающихся нейронных сетей мозга. Конкуренция между синаптическими входами, баланс между возбуждением и торможением, а также взаимодействие с внеклеточными матриксами - всё это играет роль в образовании связей внутри мозга во время развития сенсорных систем [149, 150]. Начиная с классических экспериментов с депривацией Хьюбела и Визела в 1964 году, хорошо известно, что закрытие одного глаза в раннем возрасте приводит к необратимой потере остроты зрения депривированного глаза [329, 76, 259]. Несбалансированный визуальный опыт и конкуренция сенсорных входов между двумя глазами приводит к быстрому смещению нейрональных ответов в первичной зрительной коре в пользу открытого глаза. Этот период пластичности известен как критический период зрительного доминирования [329, 12]. Понятие "критический период" обозначает промежуток времени, в течение которого для нормального развития необходимо наличие специфических внешних или внутренних условий, тогда как отсутствие таких условий приводит к необратимым изменениям в организме [101]. По аналогии со зрительной доминантой, концепцию критического периода стали применять и по отношению к соматосенсорному пути от вибриссы к баррелю [311, 93, 103]. Однако существуют значительные различия между развитием и организацией этих двух сенсорных систем, различаются и подходы к сенсорной депривации. Оклюзия глаза посредством сшивания век блокирует естественную зрительную стимуляцию без какого-либо повреждения сетчатки или зрительных путей, в то время как лизирование фолликула вибриссы или перерезание инфраорбитального нерва физически

повреждает сенсорный аппарат. Таким образом, так называемая "пластичность", выражающаяся в отклоняющейся от нормы организации тригеминального пути или баррельной коры, есть по сути отражение уязвимости развивающейся системы по отношению к повреждению во время образования связей, нежели критическая природа сенсорного опыта. Изначально термин "критический период" использовался для описания структурных изменений вдоль тригеминального пути после повреждений вибрисс у новорожденных животных [25]. Однако сейчас термин "пластичность во время критического периода" широко применяется при описании структурных, функциональных и поведенческих изменений, наблюдаемых после повреждения сенсорной периферии или простом подрезании вибрисс при рождении.

В соматосенсорной коре новорожденных крыс зона представительства тела формируется в первую неделю после рождения. Так как любая модуляция сенсорного опыта в этот период сказывается на данном процессе самым драматическим образом, первая постнатальная неделя считается критическим периодом развития соматосенсорных зон. Во время этого периода, ТКА прорастают в неокортекс и формируют специфичные по входу паттерны синапсов с неокортикальными нейронами (т.е. специфичный вибрисса-баррель паттерн в баррельной коре) [311, 93, 103]. Манипуляции с периферическими рецепторами или с кортикальной активностью во время критического периода могут нарушить формирование таламокортикальных синапсов [102, 99, 159]. Фармакологические или генетические манипуляции, связанные с нарушением функционирования НМДА-рецепторов (НМДА-Р), приводят к порокам развития и функциональной недостаточности баррельной коры [86, 120, 121, 162, 200, 294]. Во время критического периода в таламокортикальных синапсах наблюдается существенный вклад НМДА-Р и обусловленной ими пластичности, включая превращение «молчащих» НМДА-Р синапсов в полностью функциональные смешанные АМПА/НМДА-Р синапсы, а также переключение медленной кинетической опосредованной синаптической передачи на

быструю, опосредованную АМПА-рецепторами передачу [82, 12, 143, 132, 120, 249].

Классическим примером изучения структурной пластичности соматосенсорной системы во время критического периода служит работа Ван дер Луса и Вулси 1973 года [311]: они электрически прижигали фолликулы вибрисс ряда С непосредственно после рождения крысят, в результате соответствующий ряд баррелей в коре сжимался и его территорию захватывали баррели соседних рядов D и E (Рисунок 7). Эти изменения прослеживаются также в других исследованиях на крысах и мышах на уровне терминалей ТКА, клеток IV слоя коры и их дендритной ориентации [332, 145, 132]. Если перерезать инфраорбитальный нерв и таким образом полностью депривировать все вибриссы, то баррели в коре не развиваются вовсе, а ТКА не образуют вибрисса-специфичных паттернов [32, 35, 167] (Рисунок 7). Повреждение ИОН у новорожденных животных приводит к обширному апоптозу в тригеминальном ганглии, PrV ствола мозга и VPM таламуса [206, 207, 294, 41]. Молекулярные и функциональные изменения в PrV, первой станции передачи соматосенсорной информации, влекут за собой дефективные изменения на следующих уровнях - в таламусе и баррельной коре.

В отличие от физического повреждения фолликулов вибрисс или ИОН, простое подрезание или выщипывание вибрисс у новорожденных не оказывает влияния на общем морфологическом уровне, но имеет другие последствия: снижение уровня сложности дендритных и шипиковых отростков нейронов в баррелях и последующее обеднение поведенческого репертуара у животных [204]. Например, Фокс в 1992 году проводил исследования, в которых у крысят с самого рождения оставляли только одну вибриссу (D1), а другие регулярно выщипывали до возраста P30-P90, когда, собственно, проводилась регистрация активности в баррельной коре.

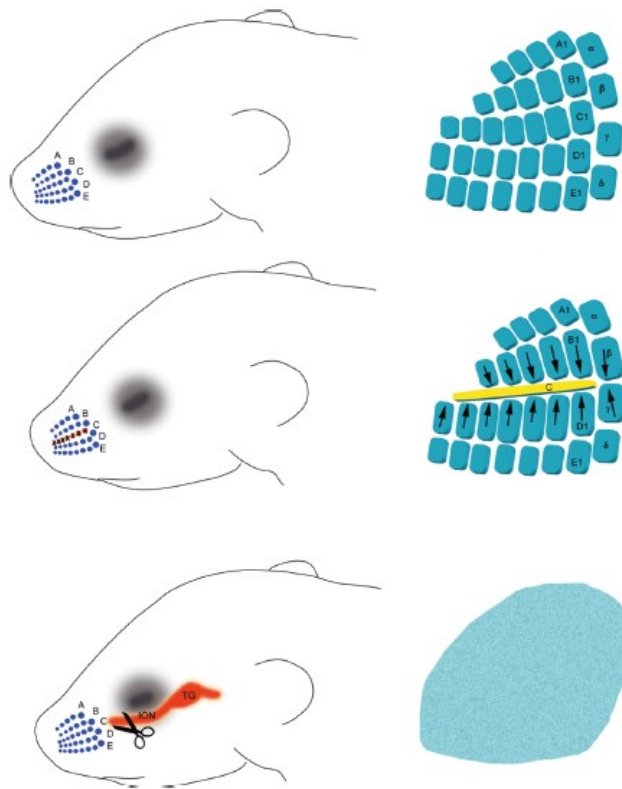
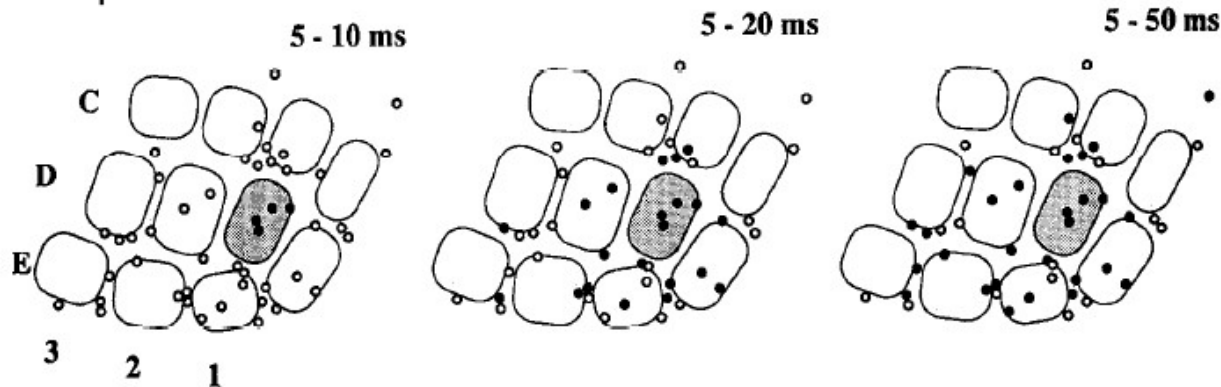


Рисунок 7 - Схематичное изображение модели классической структурной пластичности в баррельной коре после прижигания фолликулов ряда С либо перерезания ИОН во время критического периода (до возраста P3) [98].

Гистологическое окрашивание цитохромоксидазой не выявило отклонений в форме баррелей, однако электрофизиологическая регистрация активности нейронов IV слоя коры показала, что у депривированных в возрасте P0 животных стимуляция D1 вызывала ответы с короткой задержкой не только внутри соответствующего барреля, но и в соседних баррелях, что в норме не встречается (Рисунок 8). При этом стимуляция отросших депривированных вибрисс также вызывала ответы с короткой задержкой в соответствующих баррелях [115].

Контроль



Все вибриссы, кроме D1, депривированы при рождении

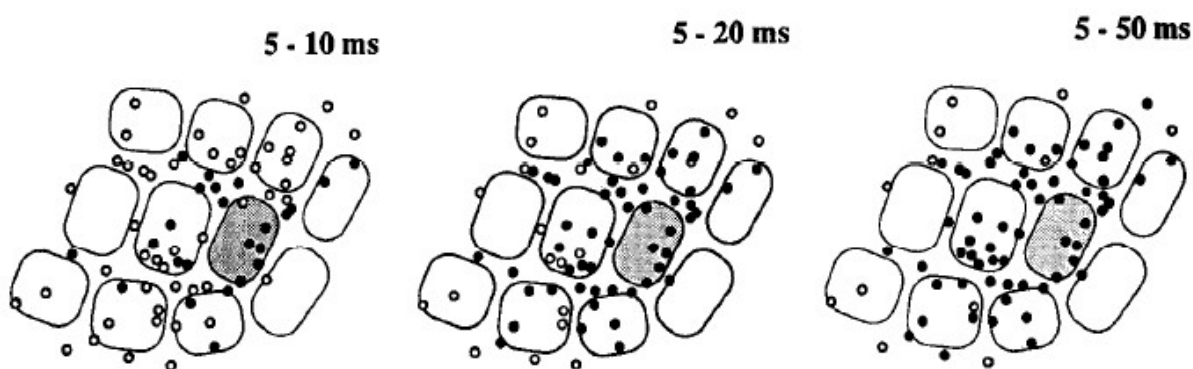


Рисунок 8 - Эффект депривации на соматотопию в IV слое коры

Примечание: Каждый кружок обозначает место введения регистрирующего электрода; закрашенные черным кружки обозначают наличие хотя бы одной клетки, отвечающей на стимуляцию уса D1 с задержкой 5-10 мс (слева), 5-20 мс (по центру) и 5-50 мс (справа); в незакрашенных кружках задержки ответов превышали данные пределы [115].

Следует отметить, что вибрисса-специфичные паттерны в VPM и баррельной коре находятся в процессе развития в течение первой недели, поэтому пластичность в данном случае - это скорее ненормальное развитие этих элементов в ответ на физическое повреждение сенсорной периферии, а не реорганизация уже существующих паттернов пресинаптических афферентных терминалей и ориентированных дендритных деревьев постсинаптических клеток [98].

2.9 Веретенообразные и гамма-вспышки в соматосенсорной коре

Внеклеточная и патч-кламп регистрация у крыс во время первой недели после рождения выявила, что в основе этой пластичности во время критического периода лежат два преобладающих организованных паттерна активности в соматосенсорной коре: так называемые веретенообразные вспышки и гамма-вспышки [183, 212, 213, 333] (Рисунок 9).

Они представляют собой транзистентные локальные осцилляторные события и отличаются друг от друга доминирующей частотой осцилляции и размером охватываемых сетей. Веретенообразные вспышки – это транзистентные вспышки ритмической активности в диапазоне 5-25 Гц, длительностью около 1 с, охватывающие области коры площадью около половины миллиметра. Гамма-вспышки (40-50 Гц) обычно короче по длительности (150-300 мс) и более локальные (~200мкм). Веретенообразные вспышки также могут смешиваться с гамма-вспышками. Записи в режиме парной прямой регистрации без высокочастотного фильтрования сигнала выявили привязанность веретенообразных вспышек к относительно большим по амплитуде (до сотен мкВ) негативным дельта-волнам. Тесная временная и количественная корреляция между мощностью альфа-бета осцилляций и временным ходом и амплитудой дельта-волн, одинаковый глубинный профиль и локализация главных синков тока (стока электрического сигнала) в плотной кортикальной пластинке, а также вовлечение ионотропных глутаматных рецепторов в генерацию обоих компонентов, свидетельствуют о том, что высокочастотные осцилляции и дельта-волны – это два компонента одной активности [218].

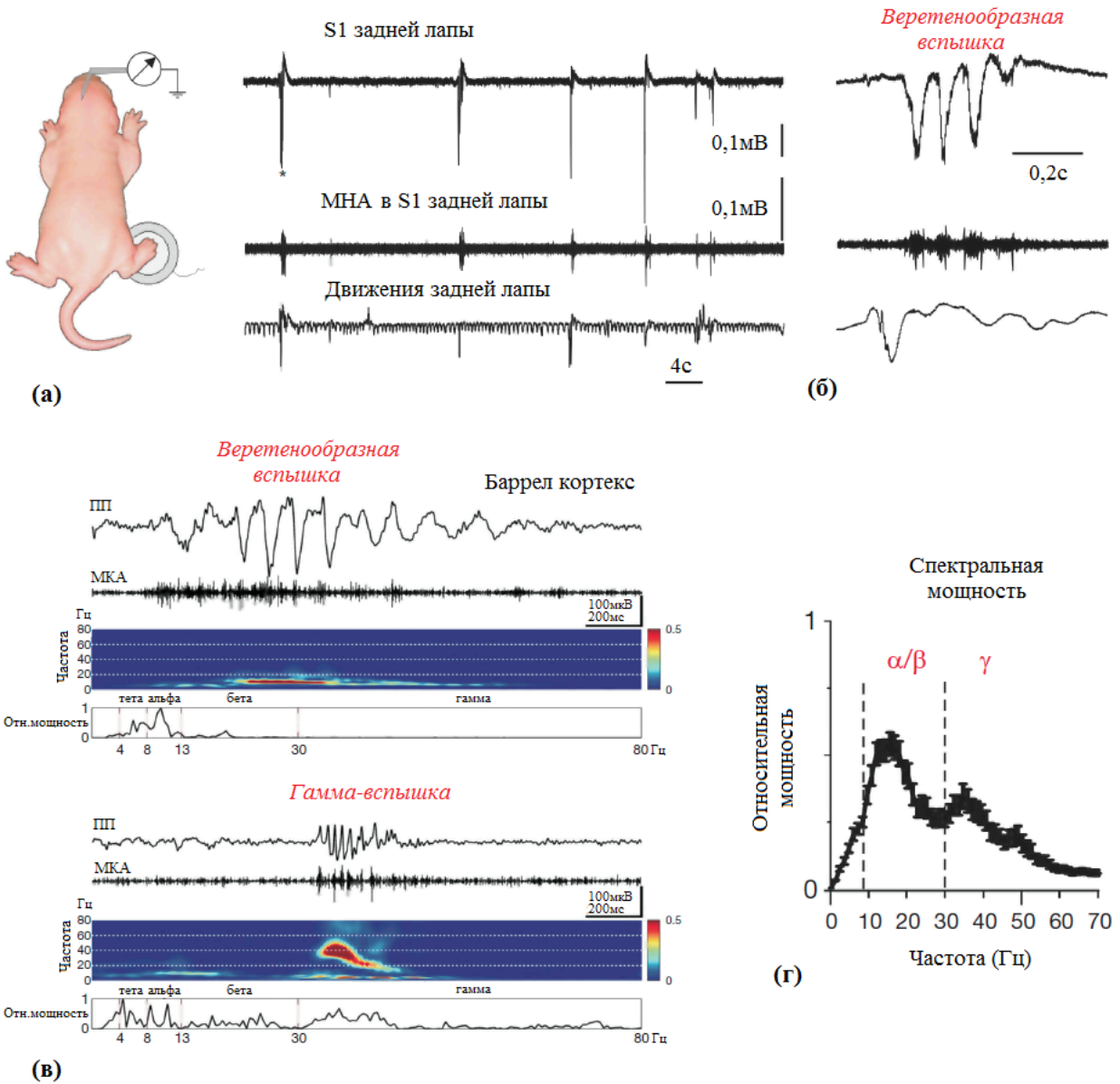


Рисунок 9 - Веретенообразные и гамма-вспышки в первичной соматосенсорной коре (S1) у новорожденных крыс

(а) Широкополосная регистрация внеклеточной активности и фильтрованная (0,3-5 кГц) множественная нейрональная активность (МНА) в S1 представительства задней лапы у крысы в возрасте P2. Положительность направлена вверх. Внизу приведена кривая движения контрлатеральной задней лапы. Непрерывный ритм отражает дыхание. Следует отметить, что полевые события с синхронизированными вспышками ПД нейронов ассоциированы с движениями. Событие, помеченное звездочкой (*), показано на развернутой временной шкале в (б). (в) Примеры веретенообразных вспышек (верхняя панель, P1) и гамма-вспышек (нижняя панель, P3) в баррель-кортексе

новорожденных крысят. Ниже приведены записи кодированного цветом непрерывного частотно-временного спектра и относительные мощности в разных частотных доменах. (г) Средняя спектральная мощность вспышек, зарегистрированных в баррельной коре новорожденных крыс (объединенные данные от 14 крыс в возрасте P2-7, всего 499 вспышек). Заметны два пика: в альфа-бета- (8-30 Гц; веретенообразные вспышки) и гамма- (30-80 Гц, гамма-вспышки) частотных диапазонах [180, 338, 219].

Выявление медленного компонента веретенообразных вспышек говорит в пользу их гомологии с электрографическим паттерном дельта-брашей человека, которые встречаются в соматосенсорных областях коры у недоношенных детей во время второй половины беременности. Поразительное сходство между этими паттернами указывает на то, что они являются одним и тем же физиологическим феноменом [178]. Это подтверждает целесообразность использования новорожденных грызунов в качестве модели для изучения механизмов и физиологической роли данных паттернов активности при развитии коры головного мозга.

Веретенообразные вспышки обладают некоторыми сходными электрографическими характеристиками с сонными веретенами у взрослых [290]. Сонные веретена впервые были описаны Бергером [29], хотя сам термин был позднее предложен Лумисом [201]. Спонтанные сонные веретена (иначе называемые сигма-ритмом) — один из основных и наиболее чётко выраженных элементов спонтанной ЭЭГ, регистрируемый в состоянии естественного сна. Они имеют частоту от 12 до 15 Гц и длительность как минимум 0,5 сек. Характерным признаком сигма-ритма является нарастание амплитуды в начале вспышки и её убывание в конце вспышки. Амплитуда различна, но у взрослых в основном не меньше 50 мкВ. Сонные веретена появляются на начальной стадии медленного сна, которая следует непосредственно за дремотой (2я фаза сна). Они встречаются во время низкой общей активности ЭЭГ, либо вместе с дельта-активностью, а также могут быть закреплены на вершинах острых волн

и в К-комплексах (еще один вид электрической активности, характерный для второй фазы сна) [80]. Сонные веретена генерируются в таламических сетях и запускаются ГАМКергическими нейронами ретикулярного ядра таламуса, хотя они также могут запускаться синхронными вспышками активности кортикоталамических нейронов во время деполяризующей фазы медленных осцилляций сна [290]. В отличие от сонных веретен, веретенообразные вспышки новорожденных – более локальные события, с малой тенденцией к распространению. Более того, веретенообразные вспышки присутствуют у бодрствующих детенышей даже во время ползания и кормления и обычно запускаются миоклоническими подергиваниями отдельных мышц или вздрагиваниями всего тела. Миоклонические подергивания – один из наиболее характерных феноменов развития двигательной системы у новорожденных крыс [28, 243, 251], эмбрионов и недоношенных детей человека [52, 314, 131]. Данный тип моторной активности является результатом спонтанных вспышек активности, генерируемых в спинном мозге под контролем ствола мозга [19, 176, 178]. Задержка между движениями и кортикальными веретенообразными вспышками, а также тот факт, что веретенообразные вспышки могут также быть вызваны прямой сенсорной стимуляцией, говорят о том, что веретенообразные вспышки запускаются обратной сенсорной связью от спонтанных движений (Рисунок 9а). В настоящее время неизвестно, инициируются ли гамма-вспышки сенсорной обратной связью, однако и веретенообразные вспышки, и гамма-вспышки эффективно запускаются внешней стимуляцией [178, 209, 210, 228]. Важно отметить, что веретенообразные и гамма-вспышки сохраняются и после сенсорной деафферентации (перерезания спинного мозга или применения местных анестетиков), хотя и со сниженной частотой [179, 340]. Эти результаты указывают на то, что веретенообразные и гамма-вспышки являются эндогенными осцилляциями (таламокортикальными или интракортикальными). Так или иначе, внешние стимулы, поступающие по таламокортикальным

афферентам, могут соматотопически запускать эти осцилляции в соматосенсорной коре.

Ранние гамма-осцилляции отличаются от взрослых гамма-осцилляций по механизмам возникновения и выполняемым функциям. Эти различия у крыс приведены для наглядности в виде таблицы 1.

Таблица 1. Сравнение ранних и взрослых гамма-осцилляций.

Свойство	Ранние гамма-осцилляции	Взрослые гамма-осцилляции
Возраст	P0 (2) - P7	> P13
Связь со стимулом	Возникают в ответ на стимул, видны при усреднении	Не связаны со стимулом
Пространственная организация	Ограничены внутри одной кортикальной колонки	Распространяются по широкому радиусу
Место генерации	Гранулярный слой (L4)	Супрагранулярные слои (L2/3)
Клеточные корреляты	Высокая вероятность генерации ПД клетками L4 (50%)	Низкая вероятность генерации ПД клетками L4 (5%)
Синаптические корреляты	Чисто глутаматные до возраста P5, преобладание глутаматергических синапсов над ГАМКергическими в возрасте P5-7	Преобладание ГАМКергических синапсов над глутаматергическими
Сетевые механизмы	<P5: Прямое таламическое гамма-возбуждение	Ингибирование перисоматическими

	P5-7: Прямое таламическое гамма-возбуждение + локальное ингибирование	интернейронами
Функции	Синхронизация топографически связанных таламических и кортикальных нейронов, многократное повторение сенсорного входа в таламокортикальных синапсах	Локальная и широкая синхронизация нейронов коры во временных цепях, перцептивное связывание и пластичность
Пластичность	Долговременная потенция в таламокортикальных синапсах	Кратковременная потенция

Помимо гамма- и веретенообразных вспышек, в соматосенсорной коре грызунов первой постнатальной недели встречаются острые волновые транзисты [178, 298], которые могут отражать события обратной сенсорной связи при быстрых движениях, не инициировавших осцилляторные вспышки. Также в соматосенсорной коре были описаны редко встречающиеся продолжительные осцилляции (длительностью более 40 с) и события, напоминающие ТМА [340].

2.10 Механизмы ранних сетевых паттернов

Синаптическая основа генерации ранних паттернов активности исследовалась с использованием внутриклеточной whole-cell патч-кламп регистрации соматосенсорной [185, 203] и визуальной [56, 70, 131] коры. Эти исследования выявили ключевую роль глутаматергических и ГАМКергических синапсов в генерации ранних паттернов активности.

Механизмы веретенообразных вспышек детально изучались на баррельной коре новорожденных крыс [238] с использованием препарата коры, перфузируемого в условиях *in vivo*, что позволяло апплицировать вещества непосредственно на кору. Фармакологический анализ показал, что в генерацию веретенообразных вспышек в баррельной коре новорожденных в первую очередь вовлекаются глутаматергические механизмы (Рисунок 10). Что примечательно, относительный вклад АМПА/каинатных и НМДА-рецепторов в генерацию дельта и альфа-бета компонентов различается. Быстрые альфа-бета осцилляции большей частью требуют АМПА/каинатных рецепторов, а блокирование НМДА-рецепторов не оказывает какого-либо значимого эффекта на быстрый осцилляторный компонент. С другой стороны, дельта волны генерируются обоими типами глутаматных рецепторов, действующими сообща, хотя и с преобладающим вкладом НМДА-рецепторов. Различный вклад АМПА/каинатных и НМДА-рецепторов в два компонента веретенообразных осцилляций, видимо, отражает различия в кинетике синаптических токов, опосредованных этими рецепторами. Синаптические токи, опосредованные АМПА-рецепторами, имеют быстрое время нарастания и спада – в диапазоне миллисекунд (для примера см. [55, 194, 187]), в связи с чем идеально подходят для синхронизации такой быстрой активности, как альфа-бета осцилляции. Время нарастания синаптических токов, опосредованных НМДА-рецепторами, находится в диапазоне десятков миллисекунд, а время спада – сотен миллисекунд; т.е. в незрелых синапсах они относительно медленны [61, 70, 132, 150, 183]. Медленная кинетика НМДА-Р-опосредованных синаптических токов обеспечивает мощную суммацию во время ритмической активации синаптических входов веретенообразных вспышек. Высокое соотношение НМДА/АМПА-рецепторов в незрелых синапсах является еще одним важным фактором вклада НМДА-Р в дельта-волны [58, 67, 74, 124, 144, 326].

НМДА-Р-зависимые паттерны активности в развивающихся кортикальных сетях были описаны и на *in vitro* препаратах коры. Среди описанных паттернов: гигантские деполяризующие потенциалы (ГДП) (Ben-Ari

et al.,1989) и ассоциированные кальциевые волны [16, 17, 70, 200] в гиппокампе, а также неокортикальная вспышковая и осцилляторная активность [11, 88, 126, 171, 206]. Интересным является тот факт, что в случае гиппокампальных ГДП, деполяризирующая γ -аминомасляная кислота (ГАМК) может облегчать работу НМДА-Р посредством ослабления потенциал-зависимого магниевого блока [180, 207].

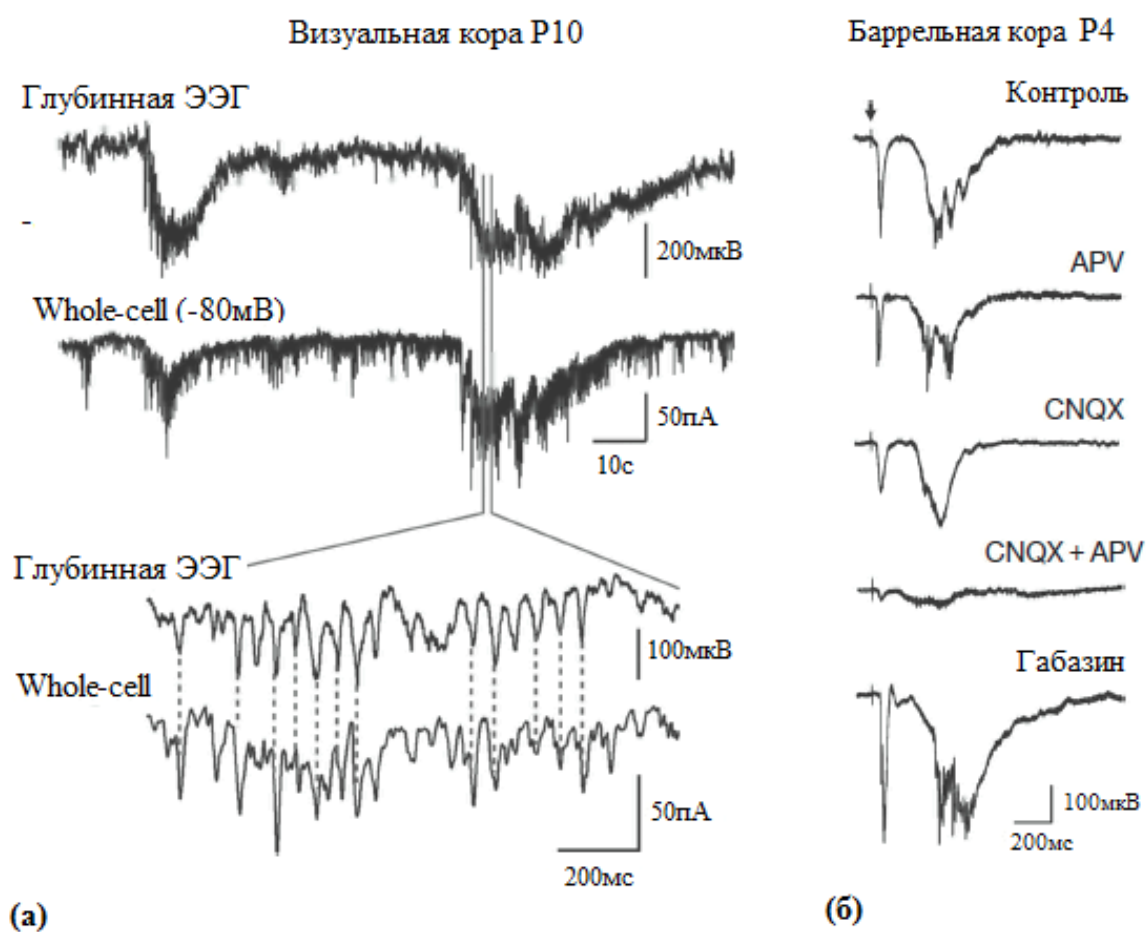


Рисунок 10 - Механизмы ранних осцилляторных вспышек

(а) Одновременная регистрация глубинной ЭЭГ (полевой потенциал, верхний трейс) и whole-cell (на глубине 400 мкм, нижний трейс) в визуальной коре крысы в возрасте P10 показала, что инфра-медленные волны ТМА состоят из простых длительных деполяризирующих токов. На развернутой временной шкале видно, что быстрые осцилляции полевого потенциала близко коррелируют с возбуждающими синаптическими токами. (б) Фармакологический анализ веретенообразных вспышек, вызванных

электрической стимуляцией области мордочки животного, на которой есть подвижные вибриссы, в баррельной коре крысы Р4. Следует отметить, что быстрый осцилляторный компонент (браши) подавляется кортикальной аппликацией антагониста АМПА/каинатных рецепторов (CNQX), тогда как дельта-компонент блокируется комбинированной аппликацией антагонистов АМПА/каинатных и НМДА-рецепторов (CNQX и APV). Блокирование ГАМК(А)-рецепторов габазином усиливает ответ [64, 218].

Активация НМДА-Р во время веретенообразных вспышек может быть напрямую связана с пластичностью, опосредованной этими рецепторами в развивающейся коре. Действительно, фармакологические и генетические манипуляции, связанные с потерей функциональности НМДА-Р, приводят к нарушениям развития и функциональной недостаточности баррельной коры [60, 65, 66, 159, 244, 226]. Во время критического периода в таламокортикальных синапсах наблюдается увеличение вклада НМДА-Р и усиление НМДА-Р зависимой пластичности, включая превращение «молчащих», содержащих только НМДА-Р синапсы в функционально полноценные смешанные АМПА/НМДА-Р синапсы, а также переключение медленной каинат-опосредованной синаптической передачи на быструю передачу, опосредованную быстрыми АМПА-Р [39, 41, 56, 70, 123, 199, 219]. Активация НМДА-Р, которая достигается благодаря обширной суммации таламокортикального входа во время веретенообразных вспышек, обеспечивает длительное временное окно для одновременной активации нейронов коры таламокортикальными клетками. Эта физиологическая парадигма может лежать в основе НМДА-Р-зависимой пластичности в развивающихся таламокортикальных синапсах, включая как потенциацию/поддержание активности нейронов во время веретенообразных вспышек, так и депрессию/элиминацию тех синапсов, которые меньше задействованы в веретенообразных вспышках. Пластичность в развивающихся синапсах зависит от времени генерации ПД, и мощность синаптического ответа может

двусторонне модифицироваться коррелирующими пре- и постсинаптическими ПД в узком временном окне (порядка 10 мс) [212]. Последние исследования свидетельствуют о возможном участии ранних осцилляторных паттернов в двусторонней пластичности в таламокортикальных синапсах [219], однако, еще предстоит выяснить, имеет ли место в ранних осцилляторных паттернах СВП (спайково-временная пластичность).

К настоящему времени накоплено большое количество данных о сетевых механизмах веретенообразных вспышек, в то время как генерация гамма-вспышек изучена в меньшей степени. Во взрослом мозге нейрональная синхронизация посредством гамма-осцилляций является фундаментальным процессом кортикальной суммации [28, 121]. Гамма-осцилляции, синхронизирующиеся посредством ингибирования [18], способствуют перцептивному связыванию [126] и поддерживают синаптическую пластичность [334]. Однако, происхождение и роль гамма-осцилляций в развивающихся нейрональных сетях остаются противоречивыми. Общепризнано, что гамма-осцилляции возникают относительно поздно в развитии [333], поскольку как ассоциативные кортикальные слои и разветвленные нейрональные соединения [39, 205], которые необходимы для перцептивного связывания, так и ГАМКергическое ингибирование [84, 90, 206], которое играет ключевую роль в ритмогенезе гаммы, отсрочены в развитии. На данный момент ряд исследований показал наличие транзистентных, локальных, гамма-вспышковых осцилляций в соматосенсорной [340] и визуальной [42] коре новорожденных крыс. Более того, исследования баррельной коры новорожденных крыс показали, что ранние гамма-осцилляции (РГО) специфически вызываются в единичном кортикальном барреле при стимуляции соответствующей (основной) вибриссы [77]. Одновременная регистрация от баррелоидов VPM и баррелей коры показали, что РГО изначально управляются таламическим осциллятором и синхронизируют нейроны в единичном таламическом баррелоиде и в соответствующем кортикальном барреле. На основе этих данных и whole-cell регистрации нейронов четвертого слоя (L4)

коры была предложена следующая модель РГО: (1) сенсорный вход от вибриссы активирует гамма-осциллятор в таламическом баррелоиде, который обеспечивает синхронизацию по топографической обратной связи в соответствующем кортикальном барреле; (2) вовлечение кортикальных интернейронов в РГО зависит от возраста: приблизительно до 5 дня после рождения РГО не зависят от кортикального ингибирования, но начиная с 5 дня, по мере развития обратного ингибирования, вовлекаются интернейроны и поддерживают РГО, контролируя повторяющееся, быстро нарастающее возбуждение коры. Таким образом, во время первой недели после рождения, РГО претерпевают эволюцию от примитивной формы кортикальной активности, пассивно следующей за таламическим осциллятором, к более сложной интерактивной модели, в которой активный кортикальный осциллятор посредством распространяющего ингибирования начинает поддерживать гамма-осцилляции. Интересным является тот факт, что искусственные РГО, воссозданные на таламокортикальных срезах парной подпороговой стимуляцией в гамма-диапазоне с потенциалами действия нейронов 4го слоя коры, приводили к длительной потенциации таламокортикальных ВПСП (возбуждающих постсинаптических потенциалов). Было предположено, что в отличие от основанных на ингибировании «взрослых» гамма-осцилляций, которые появляются в конце второй постнатальной недели и обеспечивают горизонтальную синхронизацию, РГО изначально запускаются гамма-ритмическим возбуждающим таламическим входом и обеспечивают вертикальную синхронизацию между топографически выстроенными таламическими и кортикальными нейронами. Множественное повторение сенсорного входа в таламокортикальных синапсах во время РГО («повторение - мать учения») позволило бы таламическим и кортикальным нейронам вписаться в вертикальные топографические функциональные единицы до развития горизонтальных связей и других интегративных кортикальных функций, которым содействуют «взрослые» гамма-осцилляции в зрелом мозге.

Другим интереснейшим аспектом ранних паттернов кортикальной активности является вклад в них деполяризующего и возбуждающего действия ГАМК, которая является главным тормозным нейромедиатором взрослого мозга. Синхронное торможение через гиперполяризацию и шунтирование, создаваемое ГАМКергическими интернейронами, является инструментом для генерации различных паттернов активности во взрослом мозге [22, 25, 38, 340]. Однако, регистрация с препаратов срезов мозга позволяет предположить, что на ранних стадиях развития – включая внутриутробный период и первую неделю после рождения грызунов – ГАМК, действуя через проницаемые для хлора ГАМК(A)-рецепторы, вызывает деполяризующее и возбуждающее действие в незрелых нейронах как следствие увеличивающейся внутриклеточной концентрации хлора [122, 225, 338, 340]. Увеличение внутриклеточной концентрации хлора в незрелых нейронах является результатом высокой активности ко-транспортера NKCC1, закачивающего хлор внутрь клетки, и отсроченной экспрессии KCC2, выкачивающего хлор из клетки [289, 333]. Деполяризующая ГАМК вовлечена в генерацию примитивного паттерна нейрональной сетевой активности в незрелом гиппокампе и коре – так называемые гигантские деполяризующие потенциалы (ГДП) [12, 26, 34, 180]. Во время ГДП пирамидные клетки и интернейроны разряжаются случайным образом на протяжении очень большого (до нескольких сотен миллисекунд) временного промежутка. Возбуждение пирамидных клеток и интернейронов во время ГДП является следствием синергического возбуждающего действия ГАМК и глутамата [19, 46, 180, 187, 340].

Оказывает ли ГАМК сходное возбуждающее действие при генерации ранних осцилляторных паттернов кортикальной активности *in vivo*? К сожалению, в настоящее время практически нет экспериментальных доказательств того, что ГАМК оказывает возбуждающее действие на незрелые нейроны коры головного мозга *in vivo* так, как это показано *in vitro*. Единственная доступная на данный момент информация о роли ГАМКергических интернейронов *in vivo* основана на действии

фармакологических манипуляций с ГАМКергической синаптической передачей на сетевую нейрональную активность. В гиппокампе новорожденных крыс доминирующие паттерны сетевой нейрональной активности (ГДП *in vitro* и острые волны *in vivo*) блокируются буметанидом – антагонистом NKCC1, который смещает потенциал реверсии опосредованного ГАМК(A)-рецепторами ответа в негативную сторону [79, 276, 302, 305]. Хотя сходный эффект буметанида на потенциал реверсии ГАМК(A) был найден в неокортикальных нейронах новорожденных [301, 315], буметанид не оказывал существенного влияния на веретенообразные вспышки в баррельной коре *in vivo* [208]. Таким образом выходит, что ранние гиппокампальные паттерны острых волн *in vivo* и ГДП *in vitro* в большей степени зависимы от деполяризующего действия ГАМК, чем неокортикальные паттерны веретенообразных вспышек, что соответствует наблюдениям *in vitro* [126, 270].

Тем не менее, ГАМКергические интернейроны, несомненно, участвуют в генерации веретенообразных и гамма-вспышек зависимым от возраста образом, что было показано при исследовании действия антагонистов и позитивных аллостерических модуляторов ГАМК(A)-рецепторов. Хотя блокирование ГАМК(A)-рецепторов не оказывает существенного влияния на частоту осцилляций в альфа-бета частотном домене, оно повышает мощность этих осцилляций, а также увеличивает амплитуду дельта компонента и частоту встречаемости веретенообразных вспышек. Вплоть до возраста P5 блокирование кортикального ингибирования практически не сказывается на гамма-осцилляциях, но у животных постарше такое ингибирование подавляет гамма-осцилляции. Противоположные манипуляции (т.е. усиление опосредованных ГАМК(A)-рецепторами токов диазепамом) в 2 раза снижает частоту встречаемости веретенообразных вспышек. Полученные результаты подразумевают, что ГАМКергические интернейроны играют ингибиторную роль в генерации веретенообразных вспышек. В соответствии с этими данными, блокирование ГАМК(A)-рецепторов сильно увеличивает размер активируемых во время веретенообразных вспышек областей коры. Веретенообразные

вспышки - это локальные события, и диаметр зон коры, активируемых во время веретенообразных вспышек, обычно не превышает 0,5 мм. После блокирования ГАМК(A)-рецепторов, веретенообразные вспышки регистрируются на расстоянии до 1-2 мм. Таким образом, распространение веретенообразных вспышек определяется не только топографическим таламокортикальным возбуждающим входом [22, 56, 57, 175, 171, 251], но и окружающим ГАМКергическим ингибированием, которое предотвращает горизонтальное распространение активности через глутаматергические кортикальные связи большого радиуса покрытия коры – паттерн, наблюдаемый во взрослой коре [46, 49, 289]. Тормозящее действие ГАМК на уровне нейрональных сетей не обязательно подразумевает гиперполяризацию, так как даже деполяризующая ГАМК может вызывать сильное ингибирование через механизмы шунтирования, усиленные активацией потенциал-зависимых калиевых каналов и инактивацией натриевых каналов [27, 122, 125, 203]. Эти результаты, предполагающие ингибиторную роль ГАМК во время генерации веретенообразных вспышек, в целом согласуются с данными о том, что антагонисты ГАМК(A) вызывают гиперсинхронную, похожую на эпилептический припадок, активность в неокортексе – к возрасту P3 *in vivo* [26] и P2 *in vitro* [303]. Также эти результаты согласуются с изменениями в пластичности, вызываемыми в развивающемся баррельной коре хроническим применением мусцимола – агониста ГАМК(A)-рецепторов [304].

2.11 Прерывистая временная организация ранней активности

Уникальность незрелой кортикальной активности заключается не только в ограниченных развитием паттернах активности, но и в прерывистости их временной организации (Рисунки 11, 12).

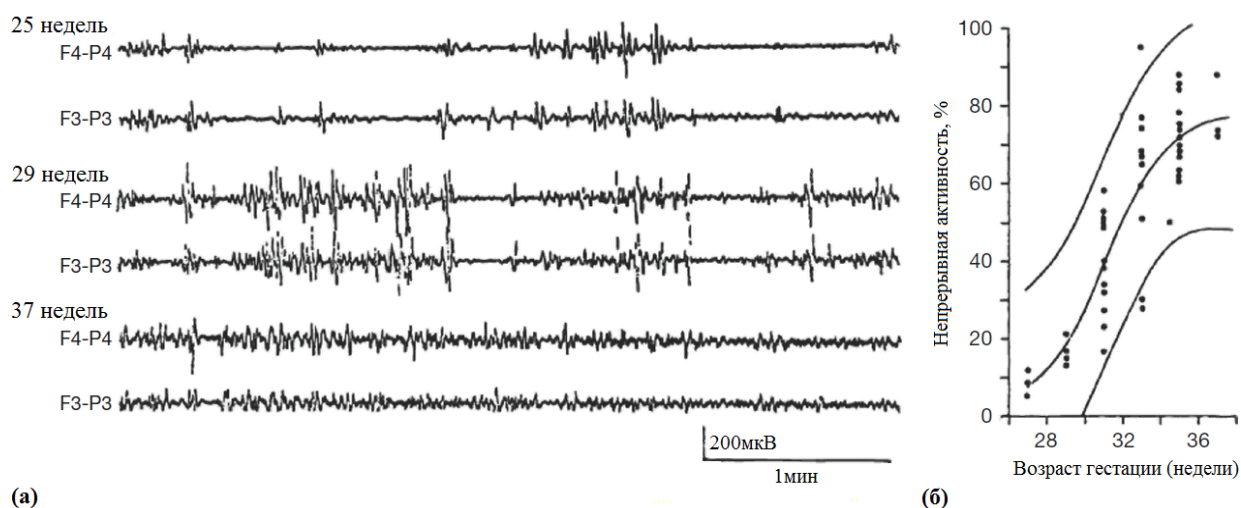


Рисунок 11 - Возрастные изменения в длительности кортикальной активности у человека

(а) ЭЭГ недоношенных детей на 25, 29 и 37 гестационных неделях.

Длительность периодов "молчания" с возрастом уменьшается, тогда как длина периодов непрерывной активности увеличивается. (б) Количественный анализ соотношения ЭЭГ, содержащей непрерывную активность (непрерывность определялась как >80% продолжительной активности в 5-минутных эпизодах с длиющимися не более 5 секунд отрезками сниженной активности с амплитудой 10-20 мкВ) [66].

Первые сообщения о прерывистой природе ранней кортикальной активности были сделаны Дрейфусом-Бризаком, Монодом и их коллегами, которые использовали электрографическую регистрацию с поверхности головы [330, 76, 259]. Анализируя ЭЭГ недоношенных детей во время второй половины гестации, они отметили, что кортикальная ЭЭГ организована в прерывистые всплески, перемежающиеся с периодами изоэлектрической ЭЭГ, которые могут длиться десятки секунд. Такая временная организация была названа *tracé discontinu* (с франц. *прерывистая линия*). По мере созревания плоские периоды между всплесками укорачиваются, а начиная где-то с 30й недели после зачатия *tracé discontinu* эволюционирует в *tracé alternant* (с франц. *переменная линия*) с низкоамплитудной активностью между всплесками, хотя даже в это время наблюдается некоторая прерывистость [13, 200].

Такая крайняя форма прерывистости кортикальной активности поразительна. Если показать записи ЭЭГ, полученные от здорового недоношенного новорожденного, «взрослому» нейрофизиологу, не упоминая про возраст пациента, то он поставит диагноз крайней постгипоксической энцефалопатии или барбитуратной комы. Однако временная прерывистость активности является нормальным свойством незрелой коры, и возникает вопрос: является ли это простым отражением незрелости нервной системы, неспособной поддерживать непрерывную активность, или, по аналогии с высказыванием Моцарта о том, что главным элементом в музыкальном шедевре является пауза, такая прерывистая организация активности коры играет важную физиологическую роль в развитии?

Первый вопрос по прерывистости активности у людей заключается в том, является ли она результатом реального молчания нейрональных сетей, как во время медленноволнового сна у взрослых, или это результат временно раскоординированной активности нейронов? Этот вопрос исследовался на новорожденных крысах. Внеклеточная регистрация спайковой активности показала, что во время периодов изоэлектрической ЭЭГ нейроны практически не генерируют ПД. С полученными результатами согласуются данные и с патч-кламп регистрацией: нейроны во время периодов изоэлектрической ЭЭГ сохраняют свой потенциал покоя на уровне -80 мВ и получают весьма незначительный синаптический вход. Это означает, что периоды изоэлектрической ЭЭГ отражают синхронное молчание нейронов. Такое состояние коллективной тишины, называемое *down-state*, присутствует также на ЭЭГ взрослых. Существуют убедительные доказательства того, что изоэлектрические периоды той же природы, что и феномен длительных *down-state* периодов. У взрослых *down-state* периоды длительностью от десятков до нескольких сотен миллисекунд наблюдаются во время глубокого сна, перемежаясь с *up-state* состояниями [39, 295, 296]. Осцилляция между *up* и *down* состояниями вызывает медленные волны в ЭЭГ и поэтому такие стадии глубокого сна иначе называются медленноволновыми осцилляциями сна.

Внутриклеточные исследования свидетельствуют о том, что когда уровень общего возбуждения в кортикальных сетях падает ниже критического уровня поддержания up-state состояния, что частично является следствием обусловленной активностью депрессии в глутаматергических синапсах, нейроны возвращаются к мембранному потенциалу покоя down-state состояния [45, 299, 302].

Незрелые нейроны делают то же самое, но на протяжении гораздо более длительных периодов времени. Так или иначе, одно важное различие между незрелой кортикальной активностью и сном у взрослых заключается в том, что незрелая кора поддерживает состояние down-state на протяжении длительного времени, даже когда животное бодрствует. У взрослых состояние бодрствования характеризуется непрерывным (также называемым активированным или десинхронизированным) режимом функционирования коры. Внутриклеточная регистрация длительной кортикальной активности во время бодрствования и БДГ-сна не имела существенных отличий от таковой во время up-state медленноволнового сна. У новорожденных крыс и недоношенных детей активированное состояние коры не наблюдается и появляется оно на второй неделе после рождения у крыс и за месяц до рождения у людей, совпадая с моментом, когда стадии сна у обоих видов становятся хорошо различимы [239, 306]. Интересно, что активное состояние развивается не одновременно по всей коре. Увеличение количества и продолжительности спонтанной активности как у людей, так и у крыс в первую очередь появляется в соматосенсорной, а затем в визуальной коре, что совпадает с исчезновением дельта-брашей и веретенообразных вспышек в данных областях коры [180, 213, 215, 353].

В становление активированного состояния коры, вероятно, вовлечены, по крайней мере, два фактора: развитие систем активации (arousal systems) и становление связей внутри коры. У крыс созревание перехода от сна к бодрствованию зависит от норадренергического развития [125], созревания холинергических [216] и норадренергических афферентов, а также

распределения рецепторов [198, 340]. Если у крыс в возрасте P13-15 изолировать передний мозг от восходящего нейромодуляторного активационного входа, то долженствующее развитию увеличение спонтанной активности в коре обратится в незрелый режим прерывистости (Рисунок 6). Непрерывность активности затем может быть восстановлена аппликацией норэпинефрина в кору [60] – ключевого инициатора активированного состояния коры [36, 120, 121]. Однако нельзя сказать, что системы активации до этого момента не функционируют. На самом деле, многие аспекты систем, активирующих ствол мозга и передний мозг, отлично работают и до становления активного состояния коры: например, изучение крысят и детей показало наличие у них поведенческих циклов сна-бодрствования, зависящего от активности нейронов переднего мозга, отвечающих за контролирование сна [171], а также модуляции паттернов кортикальной ЭЭГ во время сна [290]. Более того, функциональные моноаминергические и холинергические связи присутствуют уже на ранних стадиях [144, 165]. Но в то же время, активирующие системы еще не способны длительно поддерживать активное состояние незрелой коры. Таким образом, приобретение стволом мозга контроля над состоянием коры, вероятно, требует не просто взаимодействия нейромодуляторных систем, но и таламокортикальных изменений. Первым кандидатом на эту роль выступает усиление дальних и близких интракортикальных связей, требующееся для поддержания активного состояния коры головного мозга [254, 257].

Ряд наблюдений показывает увеличение функциональной кортикальной связанности в этот период. Во-первых, в то время как k-комплексы и сонные веретена, вызываемые световой стимуляцией у взрослых, синхронизируются в коре [9] посредством горизонтальных кортикальных и кортикоталамических связей [57, 58], дельта-браши представляют собой локальные явления [185, 330]. Во-вторых, как упоминалось ранее, у взрослых эпизоды нейронального сетевого молчания (down-states) во время сна не превышают 500 мс [255], тогда как периоды такого молчания у новорожденных крысят или недоношенных

детей могут продолжаться десятки секунд. Такие долгие периоды молчания наблюдаются на кортикальных срезах, в которых значительно снижено количество кортикальных связей [260, 255, 303]. Наконец, сетевые горизонтальные связи между пирамидальными нейронами развиваются незадолго до открытия глаз у кошек [183, 222, 203, 330] и хорьков [18, 177, 179], вне зависимости от получения визуальной информации. У людей густая сеть горизонтальных связей впервые обнаруживается на 37 гестационной неделе [41]. Поэтому установление режима непрерывной активности, вероятно, является результатом совпадения двух регулирующихся развитием факторов: (1) созреванием активирующего кору входа из ствола мозга, который обеспечивает тоническую деполяризацию нейронов, и (2) формированием возбуждающих синаптических связей между кортикальными нейронами, которые необходимы для поддержания активного состояния коры головного мозга.

На рисунке 12 показано, как меняется с возрастом кортикальная активность. В возрасте P6 все события представлены вызванными ретинальными волнами, транзиентами медленной негативно-направленной активности (ТМА) различной длительности, содержащими более быстрые ритмические осцилляции (левый и правый примеры). Активность между ТМА-событиями встречается редко. Во время второй постнатальной недели, ТМА становятся более протяженными (левый пример), тогда как активность между ними состоит из случайных 200-мс-1-с вспышек ПД (гигантские деполяризующие потенциалы (ГДП), правый пример). В конце второй недели, ТМА уменьшаются и становятся нерегулярными (левый пример), тогда как активность между ТМА событиями приобретает непрерывный и разнообразный характер (правый пример).

Также на рисунке 12 (в) показана роль нейромодуляторов восходящих путей в развитии непрерывной активности. Хирургическая изоляция по роstralной границе среднего мозга (слева, ХИ) или уретановая анестезия уменьшают непрерывность спонтанной активности у крыс P13-15. Аппликация

норэпинефрина (НЭ) на поверхность коры увеличивает непрерывность у животных, подвергнувшихся лизированию или анестезии.

В заключение, предложена гипотеза, что прерывистость и долгие периоды молчания важны для развития сетей нейронов. Все большее число данных свидетельствует о том, что развивающиеся синапсы обладают высоким уровнем пластичности, управляясь по принципу Хебба, гласящему, что нейроны, спайкующие одновременно, образуют друг с другом связь (“neurons that fire together wire together”), более детально сформулированному в теории спайково-временной пластичности [26, 33]. СВП подразумевает, что сила синаптических связей может изменяться двусторонне – или усиливаться, или угнетаться – в зависимости от времени возникновения ПД в пре- и постсинаптических нейронах. Если ПД в пресинаптическом нейроне предшествует ПД в постсинаптическом нейроне (в случае, когда постсинаптический нейрон запускается пресинаптическим нейроном), синапс будет усиливаться; в противоположном случае синапс угнетается. Изменения в обоих направлениях более эффективны в том случае, когда спайкование коррелирует в пределах десяти миллисекунд. Предполагают, что эти функциональные изменения в силе синаптических связей являются предшественниками дальнейших анатомических изменений – стабилизации синапса в случае потенциации или элиминации в случае угнетения.

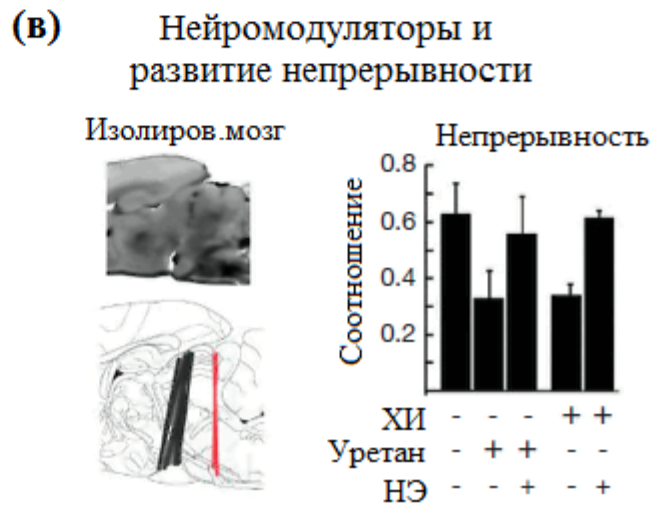
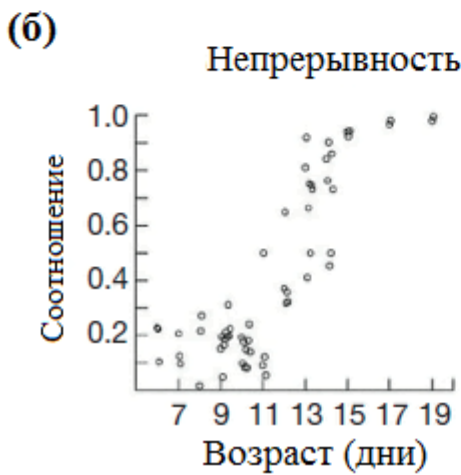
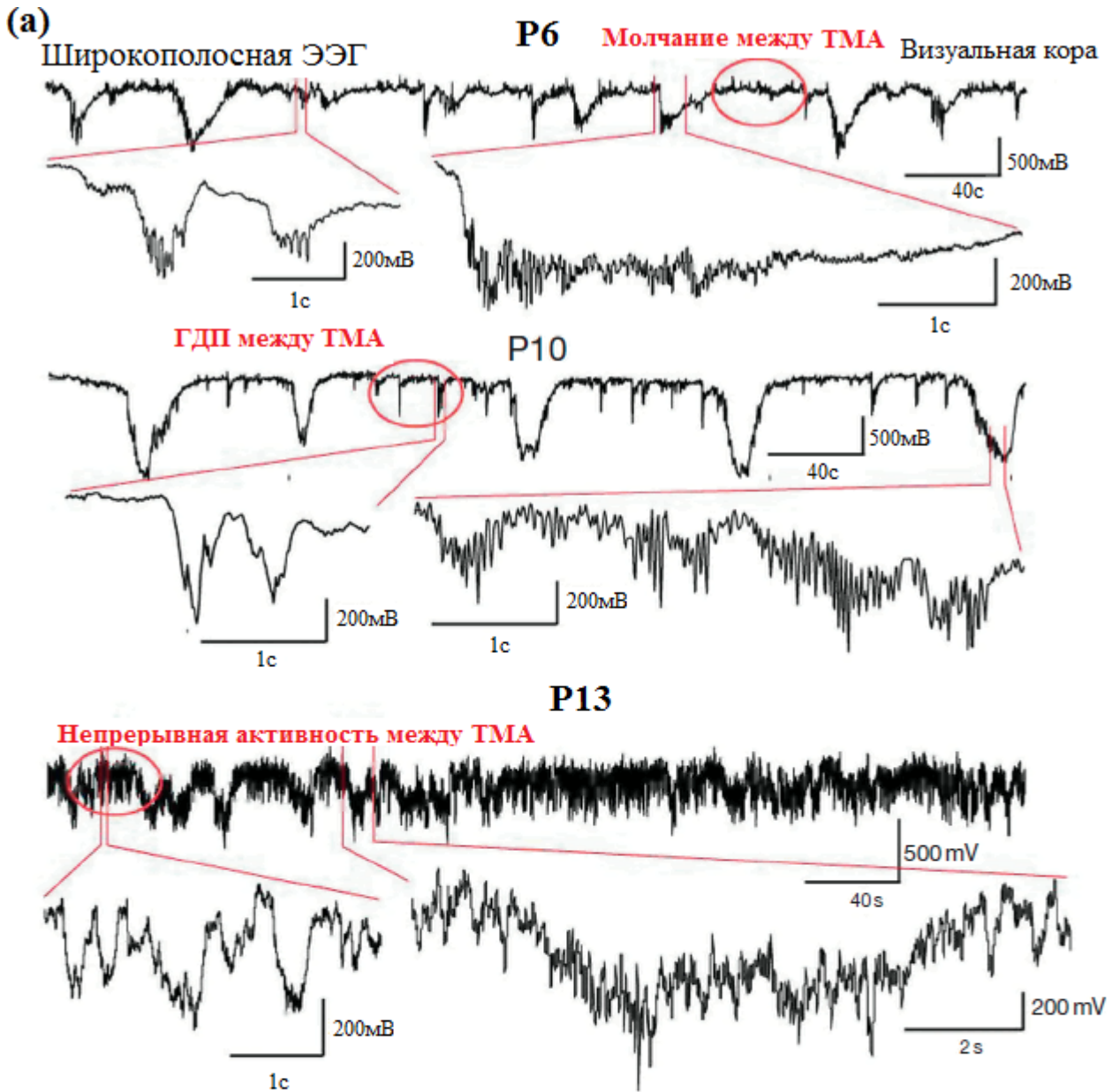


Рисунок 12 - Возрастные изменения в разнообразии и продолжительности кортикальной активности

(а) Широкополосная внеклеточная регистрация спонтанной активности в 4-ом слое визуальной коры у бодрствующих крыс на P6, P10 и P13. (б)

Непрерывность активности в постнатальный период. Непрерывность измерялась как соотношение 500-мс периодов, содержащих как минимум один ПД за время регистрации МНА. (г) Роль нейромодуляторов восходящих путей в развитии непрерывной активности. ХИ - хирургическая изоляция по роstralной границе среднего мозга; НЭ - норэпинефрин. На графике приведены значения стандартной ошибки (SEM). [64, 63].

Рассмотрим СВП в контексте временной организации, в частности, по критерию непрерывности/прерывистости, и проанализируем, каким образом СВП сказывается на пластичности таламокортикальных синапсов. Мы знаем, что сенсорный вход запускает топографические дельта-браши, обеспечивая пре- и пост-спайкование (pre-before-post firing) в нужном таламокортикальном синапсе, и таким образом создает условия для потенциации/стабилизации. С точки зрения пластичности, идеальным вариантом для потенциации было бы одновременное соблюдение двух условий: (1) каждый пре-спайк сопровождается пост-спайком и (2) каждому пост-спайку предшествует пре-спайк. Эти условия могут быть достигнуты, если топографические таламокортикальные синапсы обеспечивают необходимый и достаточный возбуждающий вход для кортикальных клеток. Возбуждение нейронов коры интракортикальными синапсами во время генерируемой внутри коры спонтанной активности вносило бы помехи в систему, как, например, случайное – в отношении таламического входа – спайкование кортикальных нейронов создаст изменчивые условия для СВП в таламокортикальных синапсах. В развивающейся коре такие помехи элиминируются отсроченным становлением горизонтальных связей, что сильно увеличивает вклад обусловленных сенсорной афферентацией таламокортикальных вспышек в

пластичность. Эту гипотезу подтверждают исследования ретинотектальных систем развивающихся *Xenopus* (шпорцевых лягушек): было показано, что синаптические модификации, вызванные активностью, легко обратимы либо последующей спонтанной активностью в тектуме, либо предъявлением случайных визуальных входов [343, 344]. Это явление находится в обратной зависимости от вспышек спайкования и активации НМДА (N-метил-D-аспаратат) подтипа глутаматных рецепторов. Стабилизация синаптических модификаций может быть достигнута с помощью определенных паттернов индукции стимулов, подаваемых с определенным временным интервалом. Эти наблюдения подчеркивают уязвимую природу вызываемых активностью синаптических модификаций *in vivo* и предполагают ограниченные во времени паттерны визуального афферентного входа для эффективной индукции стабильных синаптических модификаций. Также данные наблюдения связаны с возрастными изменениями в паттернах вызванной сенсорной стимуляцией активности [178].

3 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

3.1 Подготовка животных к эксперименту

Исследования проводились на белых лабораторных крысятах обоих полов разных возрастов начиная со дня рождения (P0) и заканчивая 7м днем после рождения (P7). Эксперименты выполнялись в соответствии с этическими требованиями по работе с лабораторными животными (протоколы экспериментов одобрены Французским национальным институтом здоровья и медицинских исследований (INSERM, N007.08.01), а также Локальным этическим комитетом Казанского медицинского университета (N9-2013)). Хирургическое вмешательство производилось с использованием изофлюрановой анестезии. В ходе хирургической операции обнажался участок черепа животного с последующим убираением надкостницы с обнаженной кости. Ориентируясь по координатам относительно анатомических точек пресечения саггитального шва с корональным (брегма) и затылочным (гамма) швами, мы отмечали участок черепа размером 4-9 мм² над баррельной корой левого полушария. Обнаженная и подсушенная область черепа вокруг этого участка покрывалась последовательно цианакрилатным клеем и зубным цементом быстрой фиксации, с помощью последнего голова животного закреплялась на кольцевой держатель с множеством степеней свободы, что позволяло в дальнейшем удобно располагать поверхность головы животного относительно микроскопа и манипулятора с регистрирующим электродом. После хирургической операции животное помещалось в установку и неподвижно фиксировалась в области головы к стереотаксу с помощью вышеописанного крепления. Для обеспечения комфортных условий животное обкладывалось ватой, для поддержания постоянной температуры тела новорожденного крысенка под ним располагался термоковрик с постоянным контролем поддержания температуры в пределах 35-37⁰С. В качестве

референтного электрода использовалась хлорированная серебряная проволока, имплантированная в мозжечок или зрительную кору животного (Рисунок 13).

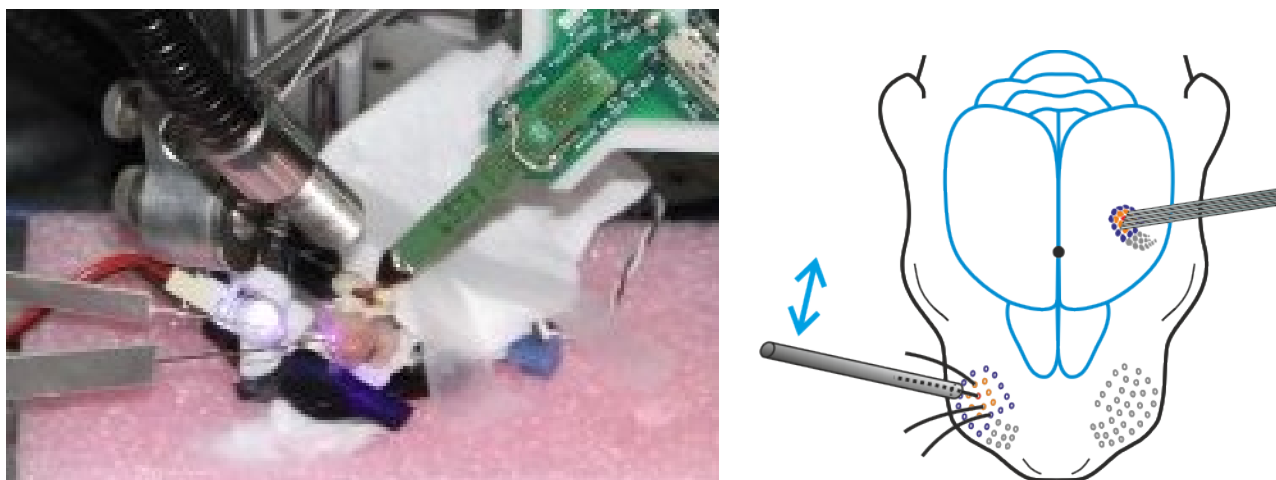


Рисунок 13 - Фотография и схематическое изображение крысенка в установке во время эксперимента.

Примечание: слева к мордочке подведены пьезодефлекторы, справа в область баррельной коры введен многоканальный электрод.

3.2 Регистрация внутреннего оптического сигнала

Для локализации специфического барреля в соматосенсорном кортексе использовался метод регистрации внутреннего оптического сигнала (ВОС). ВОС записывался с помощью специализированной высокоскоростной и высокочувствительной системы регистрации видеосигнала. Камера располагалась ортогонально поверхности не покрытого цементом участка черепа над баррельной корой. Изображения баррельной коры регистрировалось с помощью CCD камеры с частотой 50 кадров/сек. Для последующего облегчения нахождения соответствующего барреля и инсталляции электродов изначально производилась съемка расположения поверхностных сосудов. В этом случае, для улучшения контраста, использовалась подсветка баррельной коры зеленым светом (длина волны 528 нм). Для регистрации ВОС камера

фокусировалась на глубину 100-200 мкм от поверхности баррельной коры, при этом использовалось красное освещение (длина волны 625 нм), так как оксигенированная форма гемоглобина обладает максимальной абсорбцией именно к красному спектру видимого света. Основная вибрисса стимулировалась с частотой 5 Гц в течение 10 сек с задержкой 5 сек от начала видеорегистрации. Таким образом, запись видеоизображения в течение 5 сек до стимуляции являлась контрольной и использовалась для дальнейшего анализа как отображение фоновой активности. Для уменьшения шума и артефактов регистрации протокол видеорегистрации повторялся 15-20 раз с интервалом в 1 мин. Таким образом, изменения абсорбции красного цвета активным участком баррель-кортекса аккумулировались в ходе повторных стимуляций. Анализ осуществлялся на основе вычитания усредненного фонового изображения (F_0) из усредненного изображения, полученного во время стимуляции (F) с помощью разработанного алгоритма в среде Matlab. Для локализации основного барреля в соматосенсорной коре результаты анализа накладывались на карту сосудов, полученную ранее, что позволяло в дальнейшем довольно точно размещать регистрирующий электрод в соответствующий баррель (Рисунок 14).

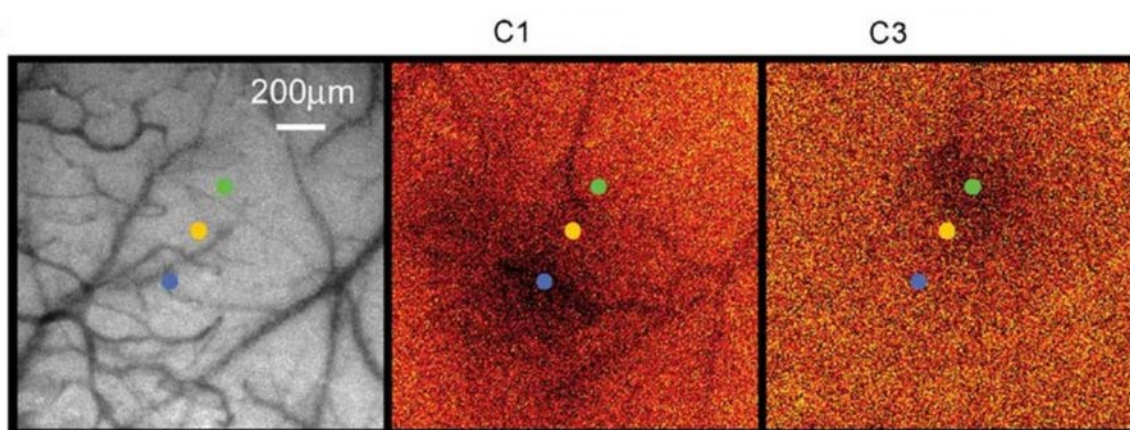


Рисунок 14 - Пример оптических сигналов, зарегистрированных в области баррельной коры методом ВОС при стимуляции вибрисс С1 и С3 для локализации функциональных кортикальных колонок [15]

3.3. Регистрация полевого потенциала

Регистрация внеклеточной активности производилась на крысятах в возрасте P0-7. Эксперименты выполнялись как на анестезированных, так и на неанестезированных животных. В качестве анестезии использовалась инъекция уретана с конечной концентрацией (0,5-1,0 г/кг). Анализ кортикальной активности показал, что уретановая анестезия не изменяла паттерны кортикальной активности в возрастной группе P2-7. В черепе, над областью баррельной коры (стереотаксические координаты относительно брегмы составляли: -0.3 до -1,5 мм антерио-постериально и 3-5mm латерально) с помощью стоматологической дрели высверливалось небольшое отверстие, твердая мозговая оболочка *dura mater* осторожно надсекалась острием иглы инсулинового шприца. Электроды располагались в центре основного барреля (визуализированного с использованием метода ВОС, описанного выше). В ряде экспериментов регистрация ВОС не производилась, и основная вибрисса идентифицировалась по короткой задержке между стимуляцией и появлением активности в регистрируемом барреле. Одиночные вибриссы стимулировались пьезодефлекцией длительностью 10-25 мсек с частотой 1 раз в 30 сек – редкая стимуляция использовалась, чтобы избежать развитие депрессии вызванных ответов в коре.

В экспериментах с регистрацией активности от целой кортикальной колонки использовались многоканальные линейные электроды на кремниевой подложке (производства Neuronexus Technologies) с 16 электродами, размещенными вдоль основы с шагом в 100 мкм либо 50 мкм. Электроды погружались в основную колонку на глубину от 0 до 1500 мкм для того, чтобы одновременно регистрировать активность от всех слоев основной кортикальной колонки. В экспериментах с одновременной регистрацией активности от нескольких кортикальных колонок мы использовали 4-хплечевые многоканальные электроды с общим количеством каналов 16 (4x4) с вертикальным и горизонтальным шагами по 200 мкм или 32 (8x4)-канальные

4хплечевые электроды с вертикальным шагом 50 мкм и горизонтальным шагом по 200 мкм (Рисунок 15). В этих экспериментах наиболее глубокие электроды размещались на глубине 800 мкм от поверхности коры. Таким образом, как минимум один электрод каждого плеча находился на уровне гранулярного и субгранулярного слоев. Регистрация единичных ПД производилась путем кластеризации сигналов, зарегистрированных с помощью 4-канальных электродов, расположенных в виде ромба на кремниевой подложке, т.н. тетродов (Рисунок 15, в правом нижнем углу). Для животных возрастной группы младше 4-х дней значения глубины для гранулярного и субгранулярного слоев определялось как глубина, на которой регистрировался ответ с минимальной задержкой вызванных потенциалов действия и 200-300 мкм ниже, соответственно. Сигналы усиливались и фильтровались (10000х; 0,1 Гц-7,5 кГц) с использованием 32х-канального усилителя, после чего производилось оцифрование с частотой 10 кГц и записывание на жесткий диск компьютера для последующей обработки.



Рисунок 15 - Типы многоканальных электродов компании Neuronex, использованные для инвазивной внеклеточной регистрации ЭЭГ

3.4. Регистрация внутриклеточной активности

Внутриклеточная регистрация активности также проводилась под уретановой анестезией (0,5-1,5 г/кг). Череп и мозговая оболочка над баррельной корой удалялись, поверхность коры покрывалась гелеобразным агаром с низкой температурой плавления (SigmaAldrich, USA) чтобы предотвратить высыхание и снизить механические пульсации открытого участка коры. Для внутриклеточной регистрации стеклянные пипетки заполнялись раствором цезий-глюконата CsGluconate (мМ: 130 Cs-Gluconate, 13 CsCl, 0.1 CaCl₂, 1

ethylene glycol tetraacetic acid [EGTA], и 10 4-[2-hydroxyethyl]-1-piperazineethanesulfonic acid [HEPES], pH 7.25) или калий-глюконата KGluconate (мМ: 130 K-Gluconate; 10 Na-Gluconate; 4 NaCl; 4 Mg-ATP; 4 Phosphocreatine; 10 HEPES [K]; 0.3 Na₂GTP, pH 7.25). С помощью внутриклеточной регистрации в режиме фиксации потенциала (voltage-clamp), записывались глутаматергические возбуждающие постсинаптические токи (ВПСТ) в нейронах внутренней части кортикальной пластинки (или 4м слое) на потенциале реверсии ГАМК(А)-Р-опосредованных токов (-70мВ) (Рисунок 16).

Внутриклеточная регистрация активности велась с использованием программного обеспечения pClamp 10.2 и усилителя Axopatch 200В в паре с аналого-цифровым преобразователем Digidata 1440 (Molecular Devices, USA).

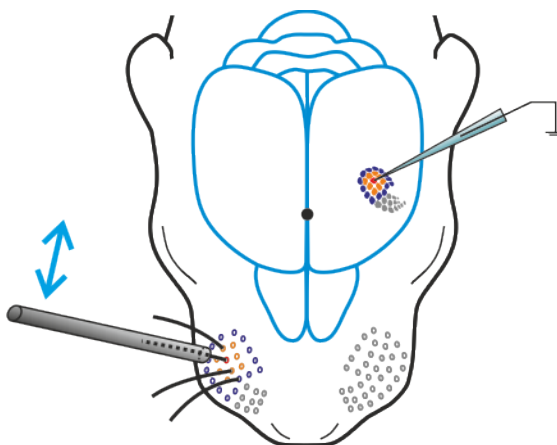


Рисунок 16 - Схема регистрации внутриклеточной активности с помощью стеклянной пипетки *in vivo*

3.5 Анализ

Исходные данные были предварительно обработаны с помощью разработанных нами функций на основе пакета программ Matlab. Исходный сигнал был прорежен до 1 кГц и в дальнейшем использовался для анализа локального полевого потенциала (ЛПП). Положительная полярность сигнала сохранена в ходе дальнейшего анализа. Для детекции ПД исходный

широкополосный сигнал был пропущен через фильтр низких частот (порог пропускания 200 Гц) и отрицательные события с амплитудой превышающей 3,5 стандартные девиации считались как ПД.

ЛПП и ПД анализировались с помощью разработанных нами функций на основе пакета программ Matlab. Анатомическую локализацию мест регистрации рассчитывали, исходя из реальной глубины погружения электрода в кору больших полушарий животного, глубины наиболее раннего ответа на стимуляцию и сравнения полученных величин с имеющимися в наличии результатами гистологических исследований анатомии и морфологии срезов баррель-кортекса. Для анализа ЛПП и МНА использовались данные от 1-2 электродов, находящихся в гранулярном и супрагранулярном слоях.

Анализ плотностей источников тока (CSD) считался по всей глубине регистрируемой колонки, благодаря чему удалось избежать пассивного проведения и локализовать синаптические токи. Расчет CSD для каждого электрода производился на основе дифференциальной схемы и сглаживался с помощью триангулярного ядра.

Задержка сенсорного потенциала определялась как разница по времени между диагональю (соответствующей постоянному уровню спайкования) и кумулятивной суммой распределения вызванных ПД. Достоверность считалась с использованием теста Вилкоксона (порог достоверности 0,05). Вариабельность данных показана на рисунках полупрозрачными областями высчитанными на основе Jackknife девиации.

Глубина сенсорного потенциала определяли, базирясь на следующих критериях: (1) множественная нейрональная активность (МНА) с короткой задержкой после стимула, (2) наличие группы соединенных точек (не меньше 4х точек) отражающих наличие спайков на нескольких соседних каналах, (3) МНА образуют всплески с амплитудой больше чем 5 стандартных девиаций от спонтанной частоты МНА, подсчитанной в окне 200мс до стимула.

Глубина сенсорного потенциала также высчитывалась на основе анализа плотностей источников тока вызванного ЛПП, где за сенсорный потенциал

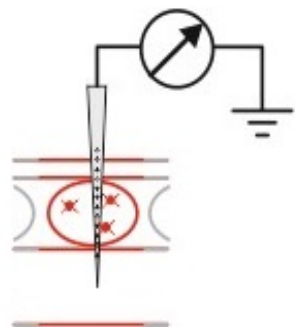
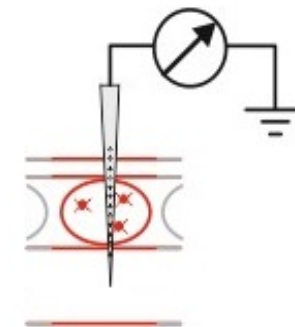
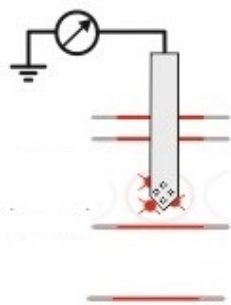
принимался вызванный кортикальный сигнал, если источник сигнала превышал 20 стандартных девиаций от спонтанных колебаний ЛПП.

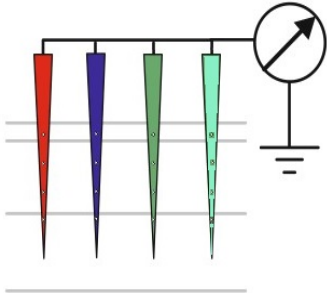
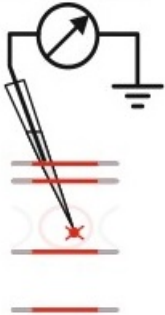
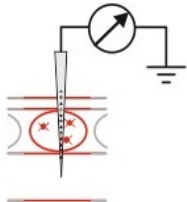
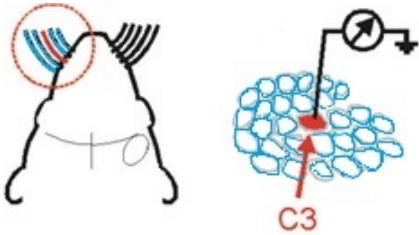
Сила рецептивного поля в баррельной коре рассчитывалась как количество внеклеточно зарегистрированных ПД, вызванных в окне длительностью 1с после стимула в 4м слое (или во внутренней части кортикального слоя у животных младше 4х дней), в ответ на поочередную стимуляцию вибрисс. Аналогичный анализ использовался для подсчета размеров проекционных полей, где общее количество внеклеточно зарегистрированных ПД, вызванных стимуляцией основной вибриссы в окне длительностью 1с после стимула, в 4м слое (или во внутренней части кортикального слоя у животных младше 4х дней) подсчитывалось на каждом плече многоплечевого многоканального электрода.

3.6 Общая схема исследований

Общая схема исследования для удобства приведена в форме сводной таблицы (Таблица 2), где указаны названия серий экспериментов, использованный метод и размер выборки.

Таблица 2. Общая схема исследований

Формирование функциональных соматотопических зон в коре головного мозга новорожденных крыс во время критического периода развития таламокортикальных связей		
<p>Характеристика рецептивных полей в баррельной коре новорожденных крыс (P0-1)</p>	<p>Многоканальное линейное внеклеточное отведение от отдельной кортикальной колонки</p> 	<p>N = 8 крысят</p>
<p>Постнатальная сегрегация рецептивных полей в течение первой недели после рождения (P0-7)</p>	<p>Многоканальное линейное внеклеточное отведение от отдельной кортикальной колонки</p> 	<p>N = 29 крысят</p>
	<p>Внеклеточное отведение от клеток IV слоя одной кортикальной колонки (тетродный электрод)</p> 	<p>N = 4 крысенка</p>

<p>Постнатальная сегрегация проекционных полей вибрисс в баррельной коре у новорожденных крысят (P0-7)</p>	<p>Многоканальное внеклеточное отведение от нескольких кортикальных колонок</p> 	<p>N = 29 крысят</p>
<p>Сегрегация синаптических входов в процессе развития (P0-7)</p>	<p>Внутриклеточное отведение от отдельных нейронов</p> 	<p>N = 19 клеток</p>
<p>Частотное кодирование в баррельной коре новорожденных крыс (P2-7)</p>	<p>Многоканальное линейное внеклеточное отведение от отдельной кортикальной колонки</p>  <p>Протоколы стимуляции</p>  <p>Протоколы стимуляции</p> <ul style="list-style-type: none"> ▬▬▬▬ Основная вибрисса ▬▬▬▬ Соседняя вибрисса ▬▬▬▬ Все вибриссы ▬▬▬▬ Все-кроме-основной вибриссы 	<p>N = 78 крысят</p>

4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

4.1 Характеристика рецептивных полей в баррельной коре новорожденных крыс

Чтобы определить первоначальное состояние функциональной организации зоны представительства вибрисс на мордочке животного в соматочувствительной коре, т.е. выяснить, является ли она точной, когда каждая кортикальная колонка получает вход только от одного периферического рецептивного поля (РП) - вибриссы, или диффузной, когда РП в соматосенсорной коре пересекаются и кортикальные нейроны получают вход от нескольких РП (Рисунок17), мы исследовали РП кортикальных нейронов с помощью метода внеклеточной регистрации *in vivo* многоканальными электродами на кремниевой подложке у крысят (в возрасте P0-1, где P0 – это день рождения крысенка; n=8 крысят) (Рисунок18).

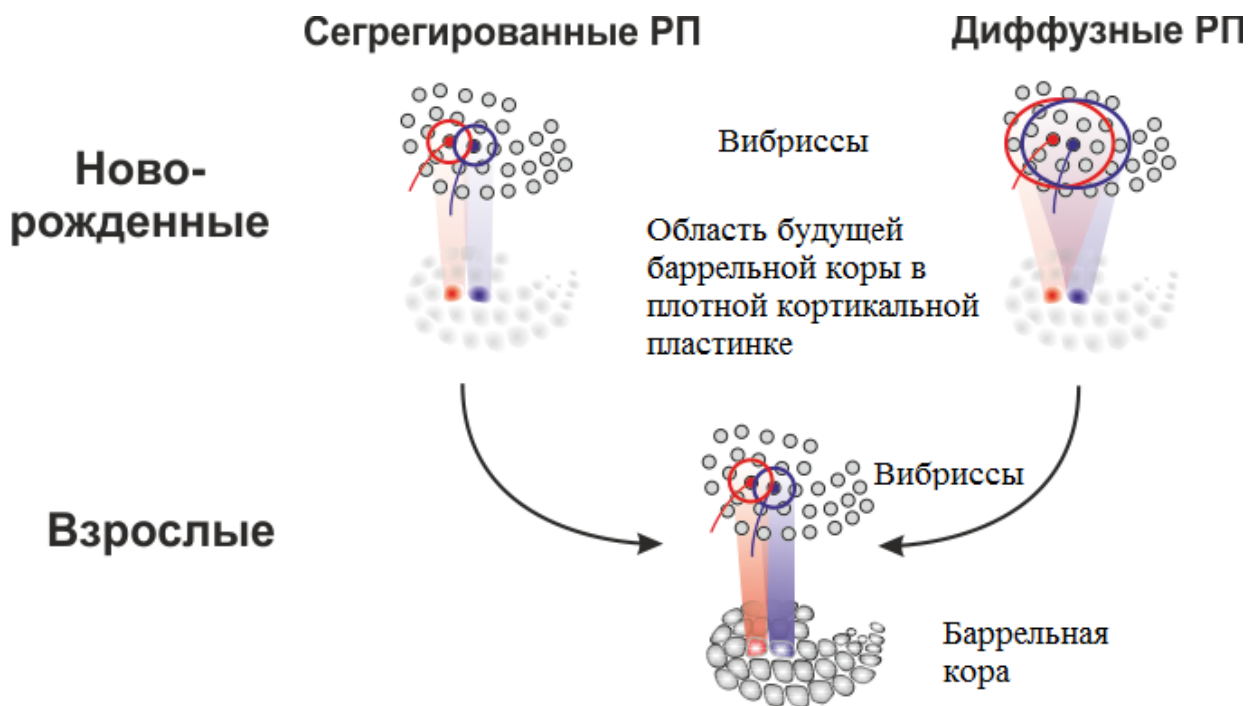


Рисунок 17 - Модели развития зоны представительства вибрисс в соматосенсорной коре крыс

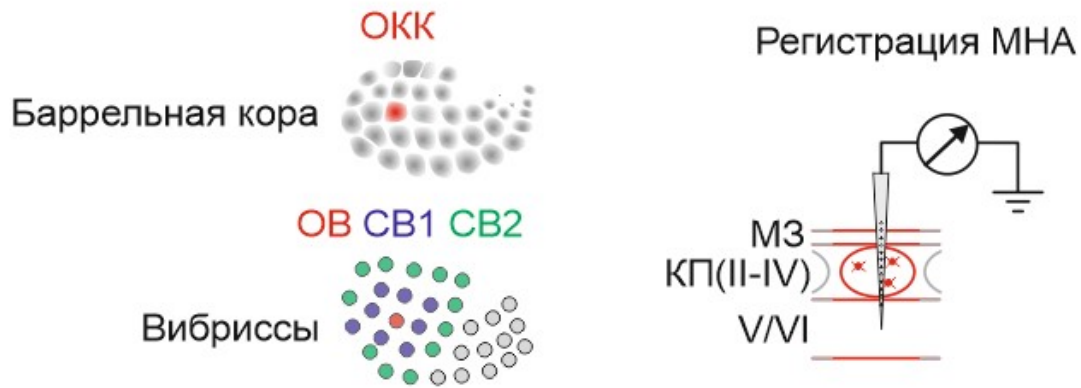


Рисунок 18 - Схема многоканальной внеклеточной регистрации множественной нейрональной активности (МНА) линейным 16-канальным электродом в отдельном участке баррельной коры

Примечание: ОКК - основная кортикальная колонка (выделена красным цветом наверху слева) баррельной коры на глубине кортикальной пластинки (КП) или IV слоя коры при стимуляции соответствующей основной вибриссы (ОВ, выделена красным цветом внизу слева). Соседние вибриссы первого (СВ1) и второго (СВ2) порядка выделены синим и зеленым цветом, соответственно.

МЗ - маргинальная зона, КП(II-IV) - область формирующихся 2-4 слоев в кортикальной пластинке, V/VI - 5/6 слои коры.

Механическая стимуляция вибрисс на мордочке новорожденных крысят (с помощью трубочки пьезодефлектора либо узконаправленного толчка воздуха) вызывала в баррельной коре электрический ответ в виде дефлексии локального полевого потенциала (ЛПП), организованного в осцилляции в виде дельта-волн и веретенообразных вспышек и ассоциированного с МНА [179, 217] (Рисунок 19).

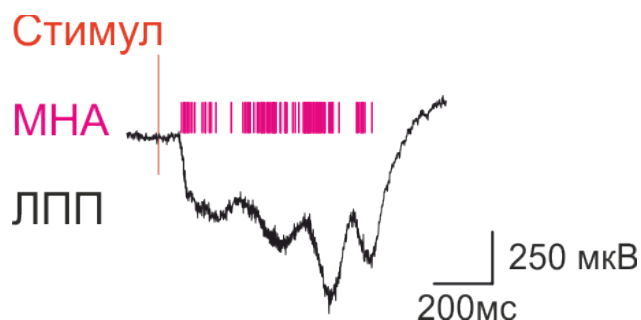


Рисунок 19 - Пример вызванного электрического ответа в баррельной коре новорожденных крысят (P0-1)

Примечание: Красная черта указывает на момент отклонения вибриссы. Черным цветом обозначен ЛПП в виде дельта волны и веретенообразных вспышек, ассоциированных с МНА (малиновые штрихи).

Анализ МНА и глубины залегания максимальной плотности источника тока (при использовании CSD) показал, что эти ответы на стимуляцию вибрисс максимальны на глубине 200-400 мкм от кортикальной поверхности, что является внутренней частью КП (будущий 4-й слой) (Рисунок 20). Вибрисса, вызывавшая максимальную МНА с минимальной синаптической задержкой, принималась за основную вибриссу (ОВ). Чтобы охарактеризовать уровень «настройки» ОВ, мы сравнивали ответы, вызванные стимуляцией ОВ, с ответами, возникающими при дефлексии находящихся рядом соседних вибрисс первого (в непосредственной близости от ОВ) и второго порядка (соседей вибрисс первого порядка) – СВ1 и СВ2, соответственно.

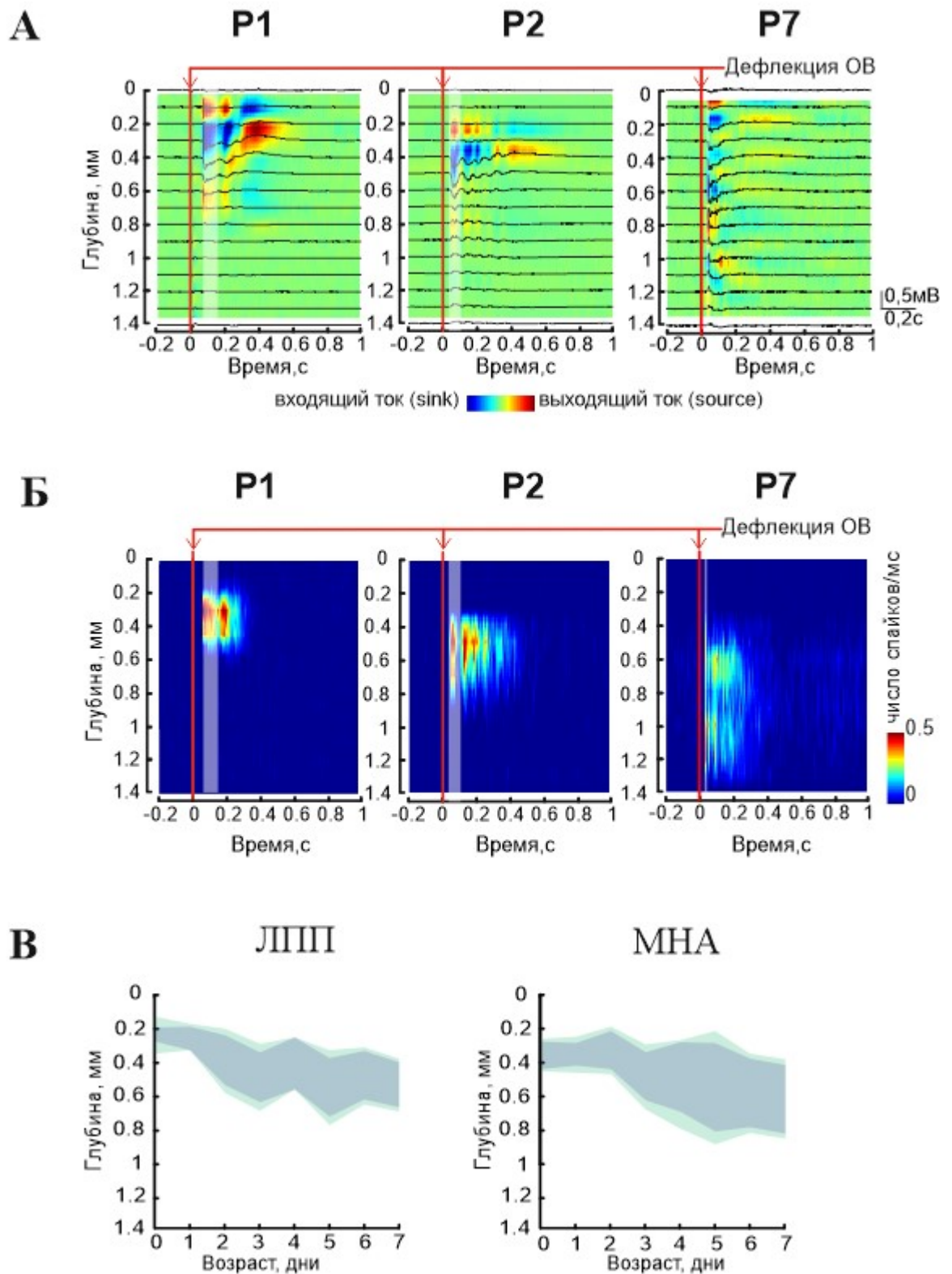


Рисунок 20 - Глубинный профиль развития ответов, вызванных сенсорной стимуляцией

(А) Усредненный вызванный локальный полевой потенциал (ЛПП, черная линия) на разных глубинах одного кортикального участка,

наложенный на кодированное цветом отображение анализа источников тока (CSD). (Б) Гистограмма МНА, вызванной стимуляцией ОБ. Результаты приведены для крыс возрастом P1, P2 и P7. Красная вертикальная линия обозначает время стимула ОБ. (В) Вычисленная на основе CSD (А) и МНА (Б) зависимость глубины вызванных сенсорной стимуляцией ответов от возраста крысят. Вариативность глубин ЛПП и МНА показана серым, Джекнайф девиации – светло-зеленым.

Во время первых двух дней после рождения стимуляция разных вибрисс вызывала в кортикальной пластинке электрический ответ в виде характерных дефлекций ЛПП, ассоциированных с МНА, в одном и том же участке регистрации, тогда как на более поздних возрастах (P2-P7), ответ в регистрируемой области баррельной коры возникал на стимуляцию только одного, максимум двух вибрисс, и отклонение соседних вибрисс никакого ответа в данной области не вызывало (Рисунок 21).

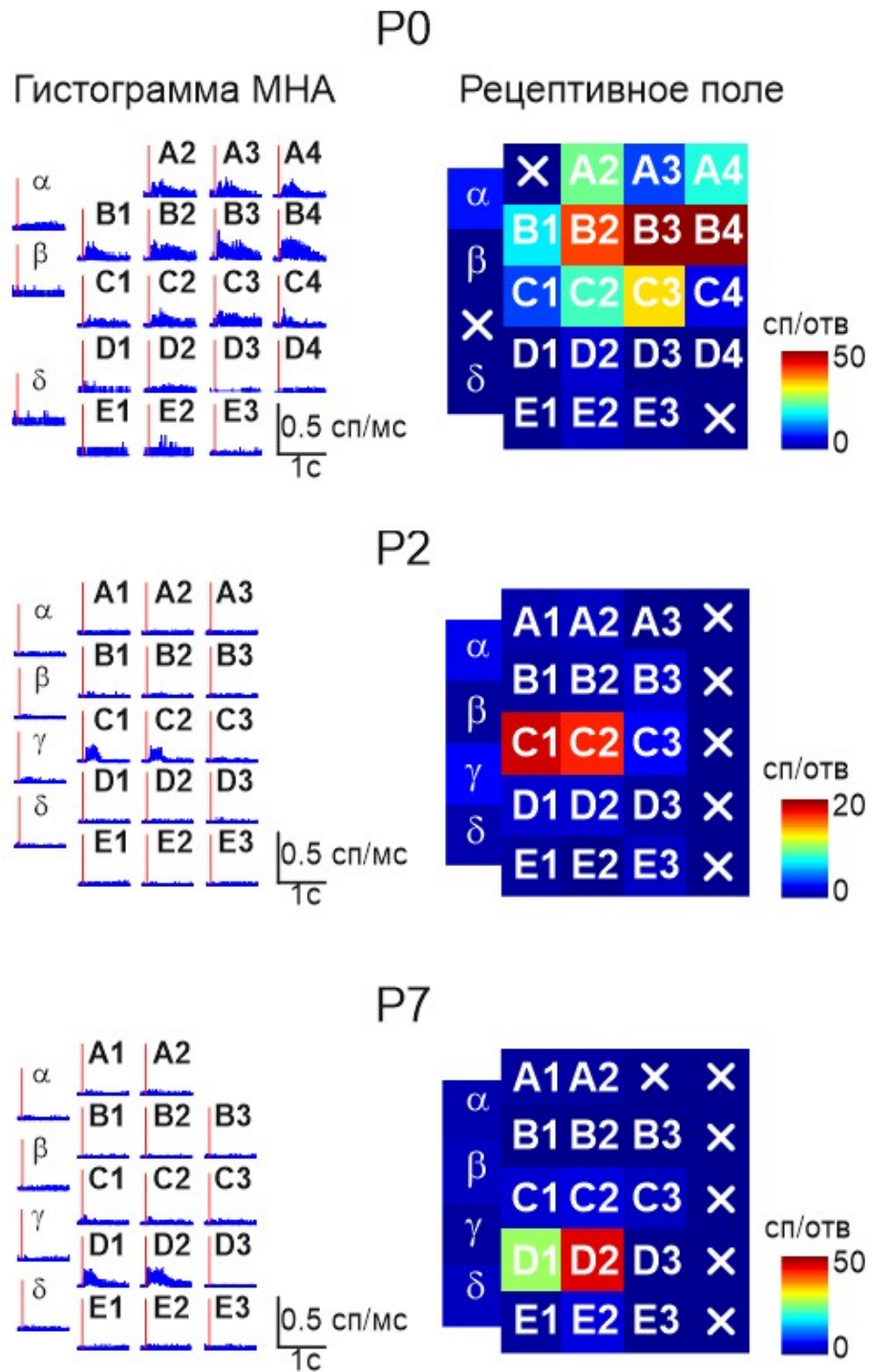


Рисунок 21 -. Гистограммы распределения МНА и рецептивные поля вибрисс в баррельной коре крысят на разных возрастах (P0, P2 и P7)

Примечание: Гистограммы распределения МНА отцентрированы по моменту стимула для каждой отдельной вибриссы (левая колонка).

РП вибрисс на мордочке крысят представлены в цветовом выражении на основе плотности МНА (правая колонка) вызванных ответов в

кортикальной пластинке (у крыс в возрасте P0 и P2) и IV слое коры (у крыс в возрасте P7). Каждая ячейка матрицы вибрисс представляет суммарное значение МНА, вызванной стимуляцией отдельной вибриссы, крестиком отмечены ячейки вибрисс, не подвергавшихся тестированию. сп/с^{-3} - количество спайков (внеклеточно зарегистрированных ПД) в секунду, сп/отв - количество спайков в одном вызванном ответе.

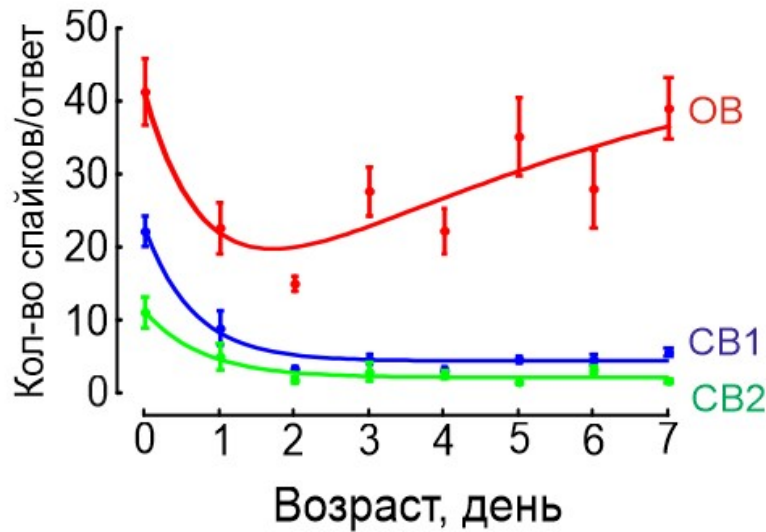


Рисунок 22 - Возрастная зависимость МНА неокортикальных ответов, вызванных стимуляцией основной вибриссы (ОВ) и соседних вибрисс первого (СВ1) и второго (СВ2) порядка

Примечание: $n = 29$ крыс, $**P < 0.01$.

Несколько типов сравнения показало, что в возрасте P0-1 рецептивные поля (РП) нескольких рядом расположенных вибрисс перекрываются в одном кортикальном участке, т.е. рецептивные поля носят диффузный характер.

Средние значения МНА в соотношениях СВ1/ОВ и СВ2/ОВ составили $0,43 \pm 0,05$ и $0,23 \pm 0,03$, соответственно (Рисунок 23).

Общее количество вибрисс, дефлексия которых вызывала значительное ($p < 0,05$) увеличение МНА, составило $8,7 \pm 1,7$ (Рисунок 24).

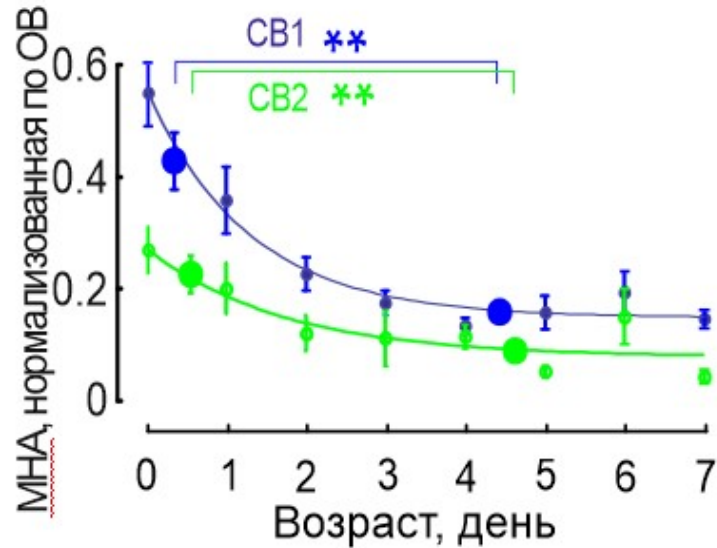


Рисунок 23 - Возрастная зависимость соотношений МНА, вызванной стимуляцией СВ1 и СВ2, и МНА, вызванной стимуляцией ОВ (СВ1/ОВ обозначено синим цветом, СВ2/ОВ - зеленым) и модельная функция экспоненциального спада, описывающая данную возрастную зависимость соотношений

Примечание: Крупными символами обозначено усреднение значений в двух возрастных диапазонах P0-1 и P2-7, при этом отрезки сверху указывают на сравниваемые значения и достоверную разницу между ними.

(n = 29 крыс, **P<0.01).

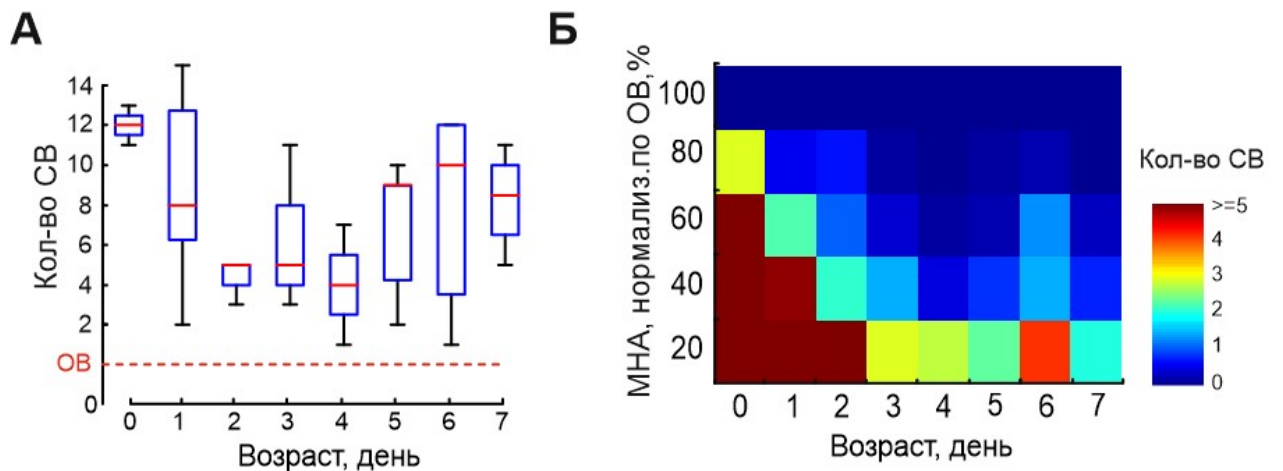


Рисунок 24 - Количество вибрисс, стимуляция которых вызывала МНА в одном участке коры

(А) Возрастная зависимость количества вибрисс, вызывающих МНА в одном участке коры внутри временного окна, равного 1 с после стимуляции. Данные представлены в виде диаграммы размаха, где медианы обозначены красным цветом. (Б) Цветовое обозначение количества вибрисс, стимуляция которых вызывает МНА в одном участке коры, нормализованного по МНА, вызываемой стимуляцией ОВ (n=29 крысят).

В среднем, $4,8 \pm 0,8$ СВ вызывало МНА, по величине превышавшую половину ответа, вызываемого стимуляцией ОВ (Рисунок 25).

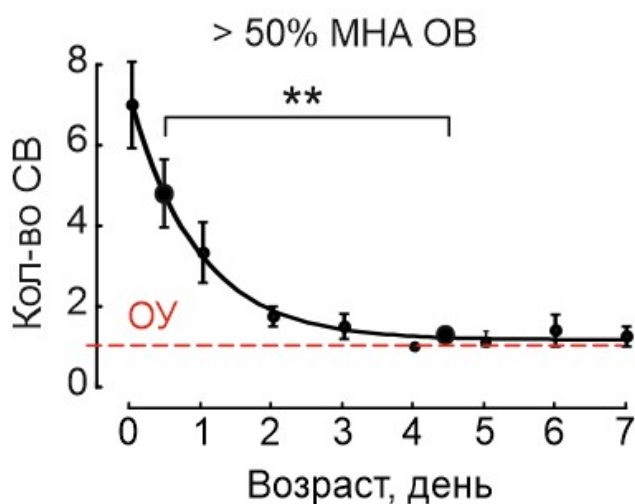


Рисунок 25 - Возрастная зависимость количества соседних вибрисс, ответы на стимуляцию которых составляли по мощности более половины от ответов, вызванных стимуляцией основной вибриссы

Примечание: Крупными символами обозначено усреднение значений в двух возрастных диапазонах P0-1 и P4-5, при этом отрезок сверху указывает на сравниваемые значения и достоверную разницу между ними.

(n = 29 крыс, **P<0.01).

4.2 Постнатальная сегрегация рецептивных полей

Диффузные проекции, когда несколько вибрисс проецируют в один кортикальный участок, наблюдаются только в первые два дня после рождения. Начиная с P2-3, проявляется взрослый тип вызванного ответа - сегрегированный тип РП [285, 15, 271], где одна вибрисса проецирует лишь в свое представительство в баррельной коре. Во-первых, это выражается в уменьшении МНА в соотношениях СВ1/ОВ и СВ2/ОВ до $0,17 \pm 0,01$ и $0,1 \pm 0,02$, соответственно (Рисунок 23), при этом в ответах наблюдается бóльшая предпочтительность к стимуляции СВ по ряду (по горизонтали), нежели по арке (по вертикали) [14, 271] (Рисунок 26).

Во-вторых, общее количество вибрисс, вызывающих МНА, уменьшается до $6,4 \pm 0,5$ (Рисунок 24). В-третьих, практически полностью элиминируются ответы от СВ, которые составляли бы по величине более половины от МНА ответов, вызванных стимуляцией ОВ ($n=21$; крысы P2-7; Рисунок 25, см. также Рисунок 24).

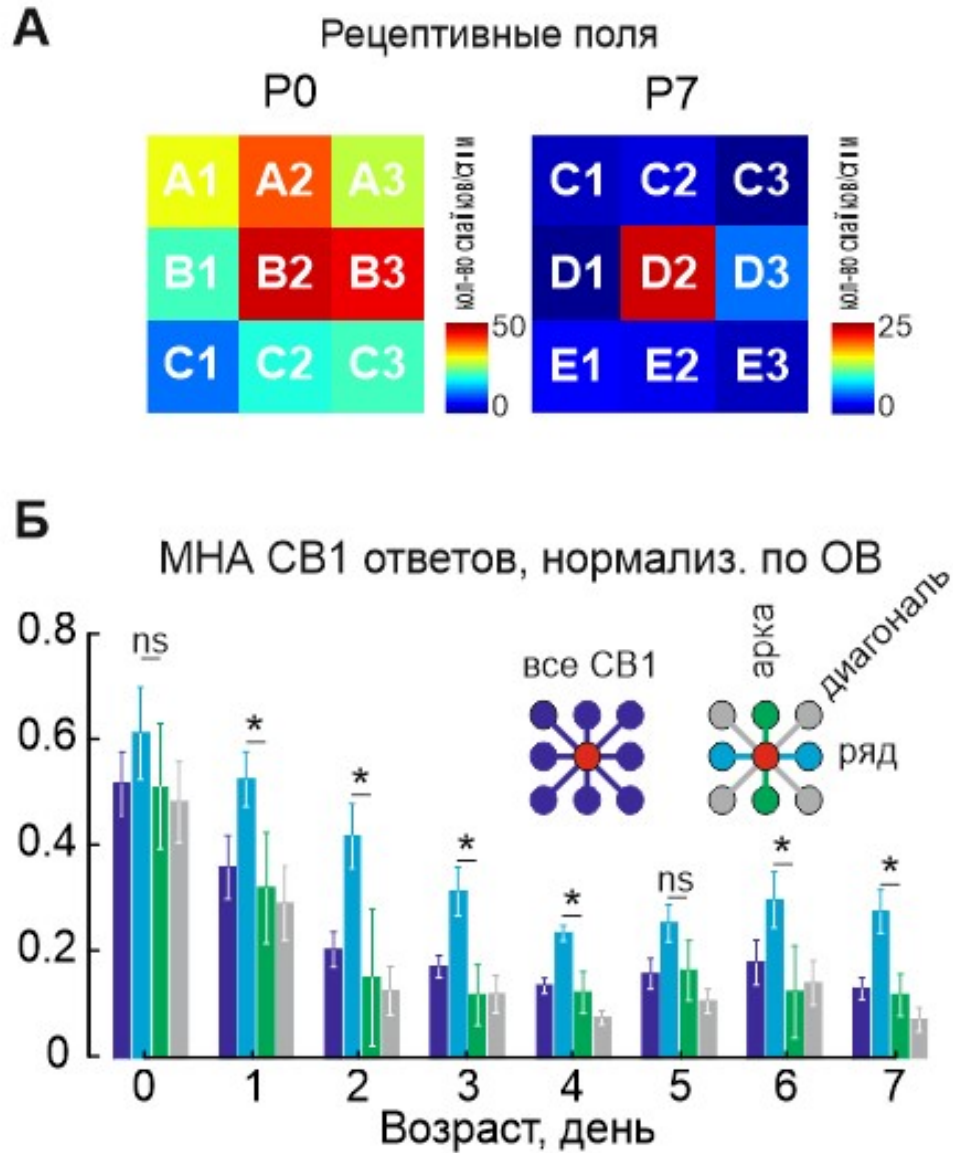


Рисунок 26 - Популяционные рецептивные поля СВ1 по рядам и аркам
 (А) Рецептивные поля для ОВ и СВ1, представленные в виде цветовой матрицы на основе анализа плотности МНА, вызванной стимуляцией соответствующих вибрисс у крысят в возрасте P0 и P7. (Б) Возрастная зависимость для соотношений МНА при стимуляции СВ1/ОВ отдельно для суммы всех СВ1 (темно-синие столбцы), СВ1 по ряду (голубые столбцы), СВ1 по арке (зеленые столбцы) и СВ1 по диагонали (серые столбцы).

Регистрация единичных ПД с помощью тетродных электродов (Рисунок 27) показала сходную картину развития рецептивных полей в постнатальный период: рецептивные поля кластеров единичных потенциалов действия в возрасте P0 оказались шире, чем в более позднем возрасте P5 (Рисунок 28).

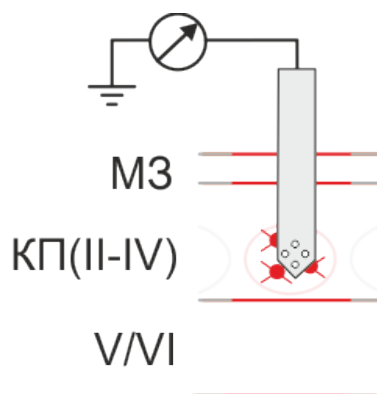


Рисунок 27 - Схема внеклеточной регистрации МНА в кортикальной пластинке (или IV слое коры) 4-канальным электродом тетродной конфигурации

Примечание: МЗ - маргинальная зона, КП(II-IV) - область формирующихся 2-4 слоев в кортикальной пластинке, V/VI - 5/6 слои коры.

У крысят в возрасте P0-1 ответы, вызываемые стимуляцией ОВ, достоверно не отличались от ответов, вызываемых стимуляцией СВ1 ($0,7 \pm 0,2$ ПД/ответ; $n=6$ ПД от 2 крысят P0-1; $p > 0,05$, Рисунок 29). У крысят в возрасте P4-5 ответы, вызываемые стимуляцией ОВ ($1,9 \pm 0,9$ ПД/ответ), становились достоверно сильнее, чем ответы, вызываемые стимуляцией СВ1 ($0,37 \pm 0,1$ ПД/ответ; $n=10$ ПД от 2 крысят P4-5; $p < 0,001$).

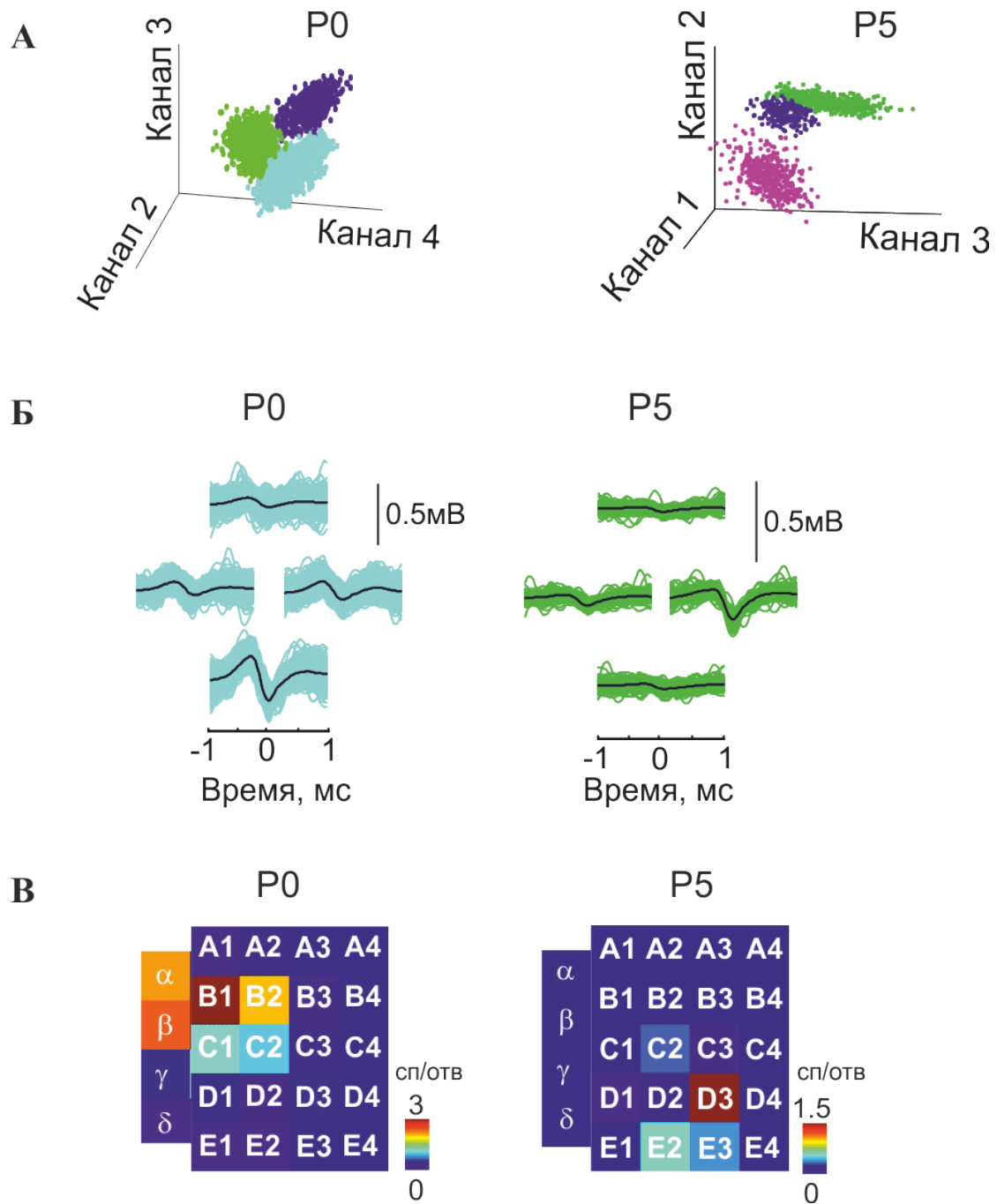


Рисунок 28 - Кластеризация единичных ПД при регистрации тетродными электродами

(А) Кластеры единичных ПД, объединенных в группы по значениям основных составляющих ПД у крыс в возрасте P0 и P5. (Б) Формы ПД, принадлежащих одному кластеру, в кортикальной пластинке (в возрасте P0) и в IV слое баррельной коры (в возрасте P5) у крыс. (В) Цветовые матрицы рецептивных полей кластеров единичных потенциалов действия, приведенных выше.

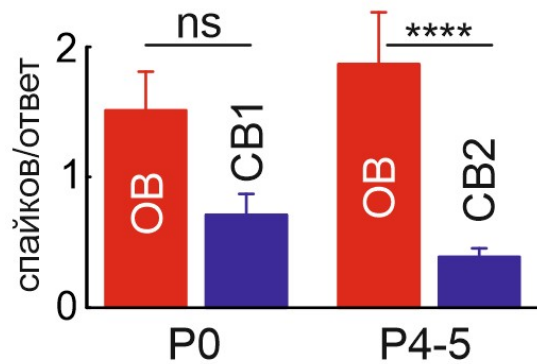


Рисунок 29 - Усредненные единичные потенциалы действия, возникавшие в ответ на стимуляцию OB и CB1

Примечание: Приведены данные по двум возрастным группам: P0 (n=6 кластеров, $p > 0,05$) и P4–5 (n=10 кластеров, $p < 0,001$).

Таким образом, рецептивные поля в баррельной коре в процессе развития проходят через стадию диффузной организации, характеризующейся широкой настройкой, когда кортикальный нейрон получает сенсорный вход от нескольких вибрисс, однако через 2-3 дня после рождения диффузная организация сменяется сегрегированным состоянием, когда нейроны преимущественно настроены на одну основную вибриссу.

4.3 Постнатальная сегрегация проекционных полей вибрисс в баррельной коре у новорожденных крысят

Активация кортикальных нейронов стимуляцией различных вибрисс подразумевает, что у новорожденных крыс сенсорный вход от одной вибриссы активирует бóльшую кортикальную территорию. Чтобы проверить эту гипотезу, для регистрации ответов при стимуляции одной вибриссы использовались многоплечевые многоканальные электроды с расстоянием 200 мкм между плечами (Рисунок 30).

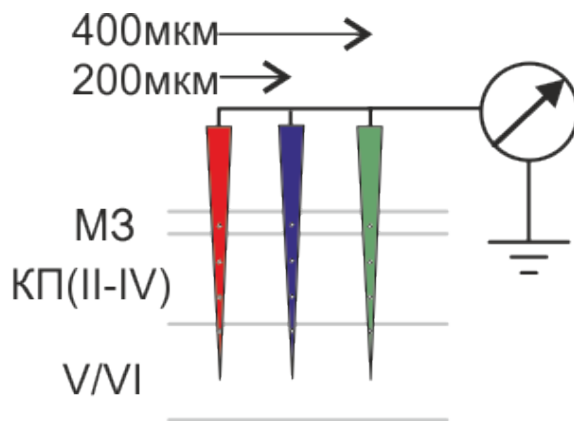


Рисунок 30 - Схема регистрации МНА с помощью внеклеточных многоплечевых многоканальных электродов

Примечание: Горизонтальное расстояние между плечами 200 мкм.

МЗ - маргинальная зона, КП(II-IV) - область формирующихся 2-4 слоев в кортикальной пластинке, V/VI - 5/6 слои коры.

Сначала мы анализировали рецептивные поля для каждого плеча электрода в отдельности, как описано выше, а затем сравнивали ответы, вызываемые стимуляцией одной вибриссы на разных плечах электрода (Рисунок 31).

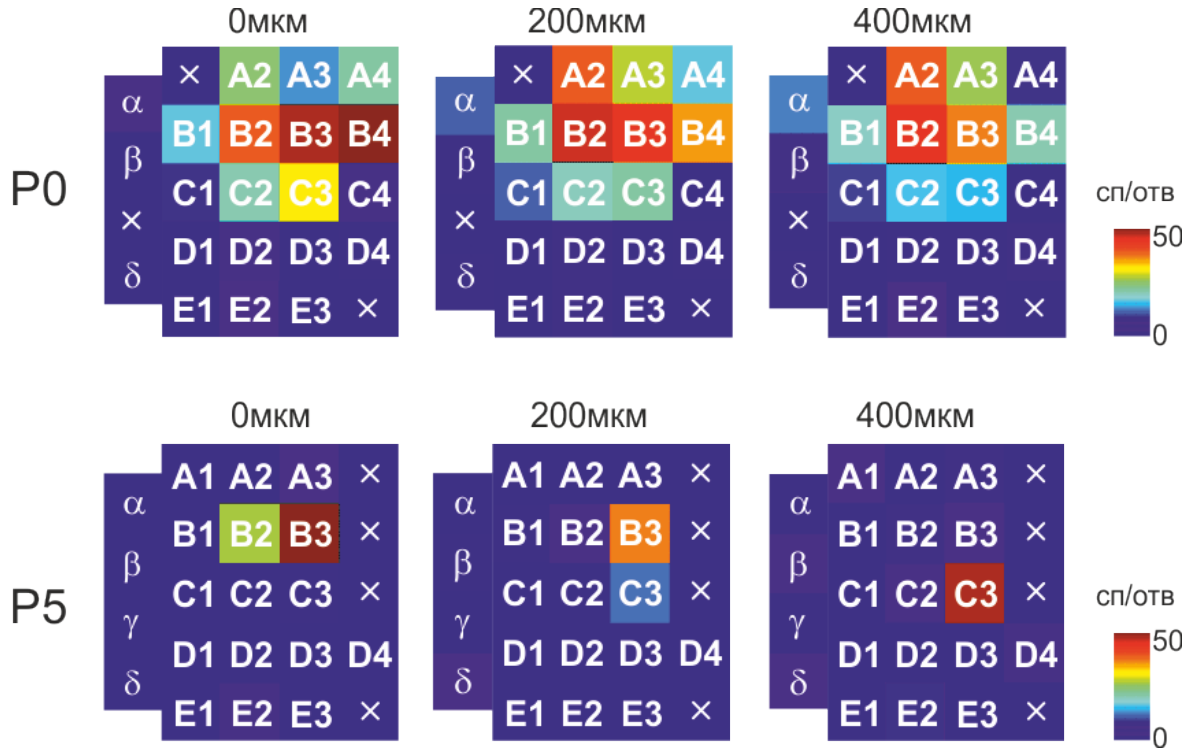


Рисунок 31 - Рецептивные поля вибрисс у крысят в возрасте P0 и P5 на трех участках кортикальной пластинки (P0) или гранулярного слоя баррельной коры (P5)

Примечание: Анализировались данные с трех плечей многоканального электрода (с расстоянием между плечами в 200 мкм). Цветовая матрица построена на основе анализа плотности МНА, зарегистрированной на разных плечах многоканального внеклеточного электрода при стимуляции отдельных вибрисс. Крестиками отмечены ячейки вибрисс, не подвергавшихся тестированию.

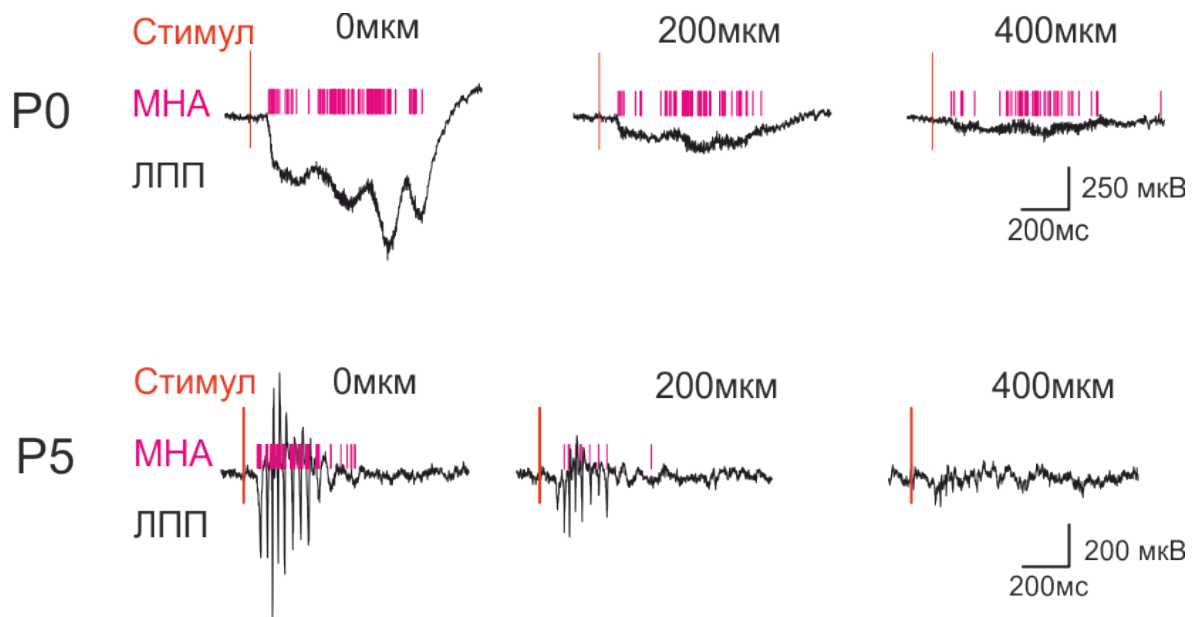


Рисунок 32 - Примеры ответов, зарегистрированных на трех участках (на трех плечах многоканального электрода с расстоянием между плечами в 200 мкм) кортикальной пластинки у крысенка в возрасте P0 (наверху) и в гранулярном слое баррельной коры у крысенка в возрасте P5 (внизу) при стимуляции вибриссы В3 (момент отклонения вибриссы обозначен красной вертикальной линией)

Примечание: Черным цветом представлены отклонения ЛПП, а малиновые штрихи над линией ЛПП отображают МНА (каждый штрих соответствует одному зарегистрированному внеклеточному ПД).

У крысят в возрасте P0-1 МНА, вызванная стимуляцией одной вибриссы, наблюдалась во множестве участков баррельной коры (Рисунок 32). Кортикальное проекционное поле (ПП) одной вибриссы оценивалось как расстояние, на котором наблюдался половинный от максимального ответ (ПП50, Рисунок 33), и составило 240 ± 22 мкм у крысят P0-1 ($n=8$).

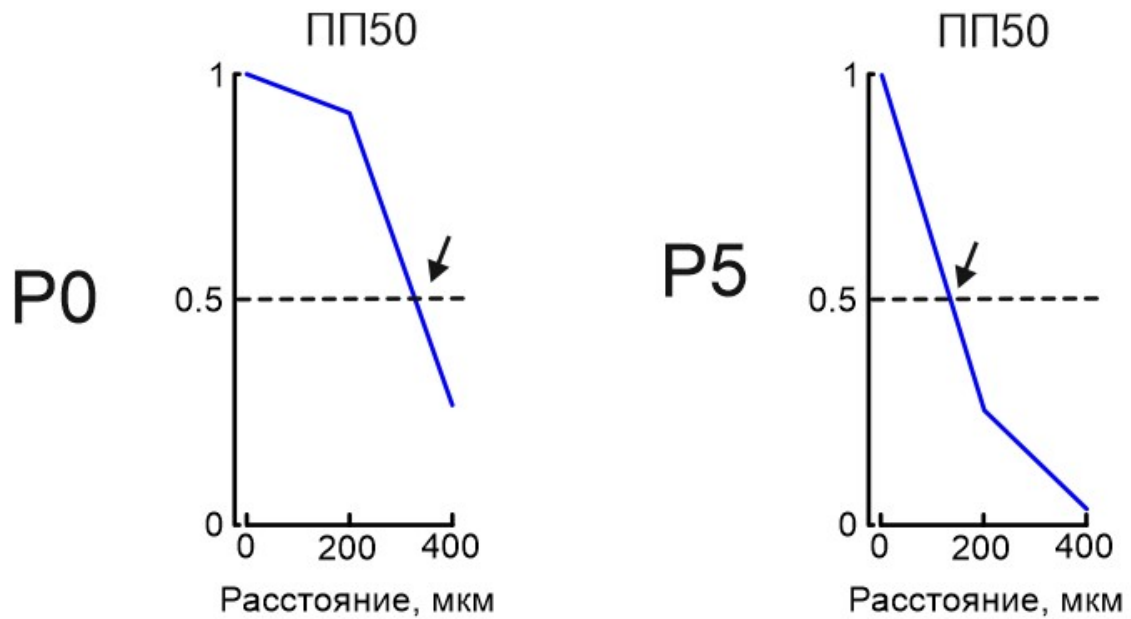


Рисунок 33 - Кортикальные проекционные поля у крысят в возрасте P0 и P5

Примечание: Размер проекционных полей (ПП50) оценивался пересечением кривой нормализованной плотности МНА ответов с пороговым уровнем, равным 50% от максимального ответа (обозначено стрелкой).

В ходе созревания ПП вибриссы сжимается до 159 ± 6 мкм в возрасте P2-7 (Рисунок 33, $n=21$). Таким образом, в соответствии с теорией диффузной настройки кортикальных нейронов одного кортикального участка коры на множество вибрисс, в раннем постнатальном периоде входы от отдельных вибрисс представляют собой широкие кортикальные ПП. Более того, сходные профили развития характерны как для проекционных (Рисунок 34, 35), так и для рецептивных полей (Рисунок 22, 23, 25).

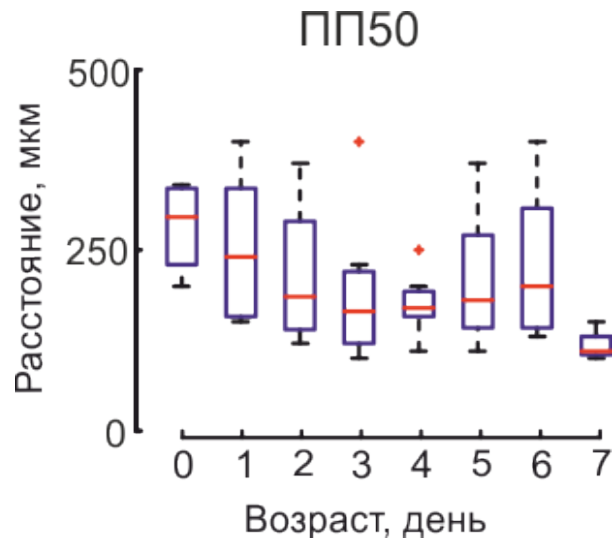


Рисунок 34 - Возрастная зависимость размеров проекционных полей
Примечание: Данные представлены в виде диаграммы размаха, где медианы обозначены красным цветом. Выборка n=29 крысят.

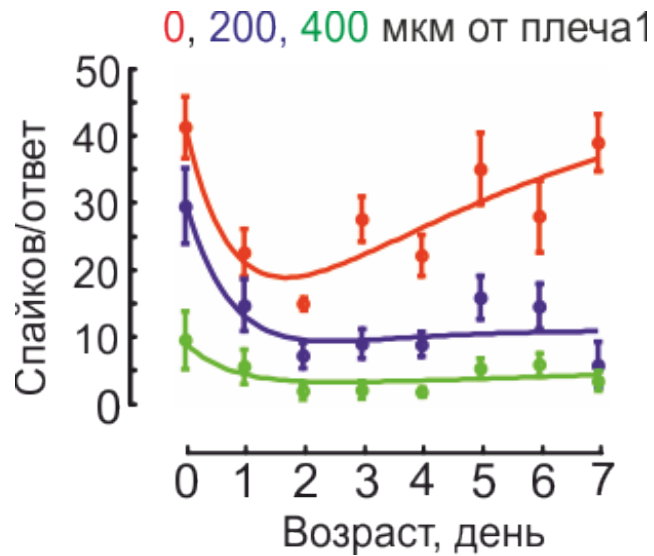


Рисунок 35. Возрастная зависимость МНА в ответ на стимуляцию одной вибриссы в основном и соседних участках баррельной коры

Примечание: Данные представлены с использованием функции экспоненциального спада.

4.4 Сегрегация синаптических входов в процессе развития

Чтобы исследовать синаптические механизмы, лежащие в основе генерации диффузных ответов у новорожденных крыс, мы применили метод whole-cell регистрации кортикальных нейронов в плотной кортикальной пластинке (Рисунок 36).

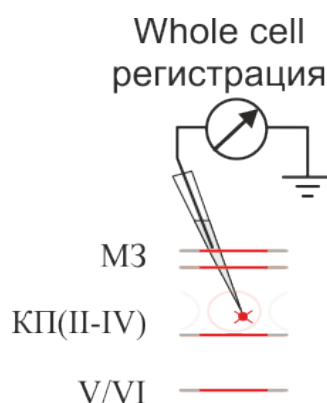


Рисунок 36 - Схема внутриклеточной регистрации электрических токов в конфигурации whole cell

Примечание: МЗ - маргинальная зона, КП(II-IV) - область формирующихся 2-4 слоев в кортикальной пластинке, V/VI - 5/6 слои коры.

В возрасте P0-1 стимуляция ОВ вызывала всплески глутаматергических возбуждающих постсинаптических токов (ВПСТ) (Рисунок 37). Общий перенос заряда во время синаптических ответов, вызванных стимуляцией ОВ, составил $-5,9 \pm 3,6$ пКл на потенциале фиксации -70 мВ ($n=6$; Рисунок 37). Как и в случае внеклеточной регистрации, стимуляция соседних вибрисс у крысят P0-1 выявила широкие РП возбуждающих синаптических ответов, при этом интегральный ответ, вызванный стимуляцией СВ1, составил $-1,4 \pm 0,6$ пК ($34 \pm 10\%$ от ответа, вызванного стимуляцией ОВ; $n=6$). У животных постарше задержка синаптических ответов, вызванных стимуляцией ОВ, сократилась до 49 ± 3 мс, тогда как интегральный синаптический ответ, вызванный стимуляцией

ОВ, увеличился до $-17,1 \pm 2.3$ пК, а ответы, вызванные стимуляцией СВ1, составили $-2,2 \pm 0,6$ пК ($n = 13$ клеток; крысы Р4-7, Рисунок 38).

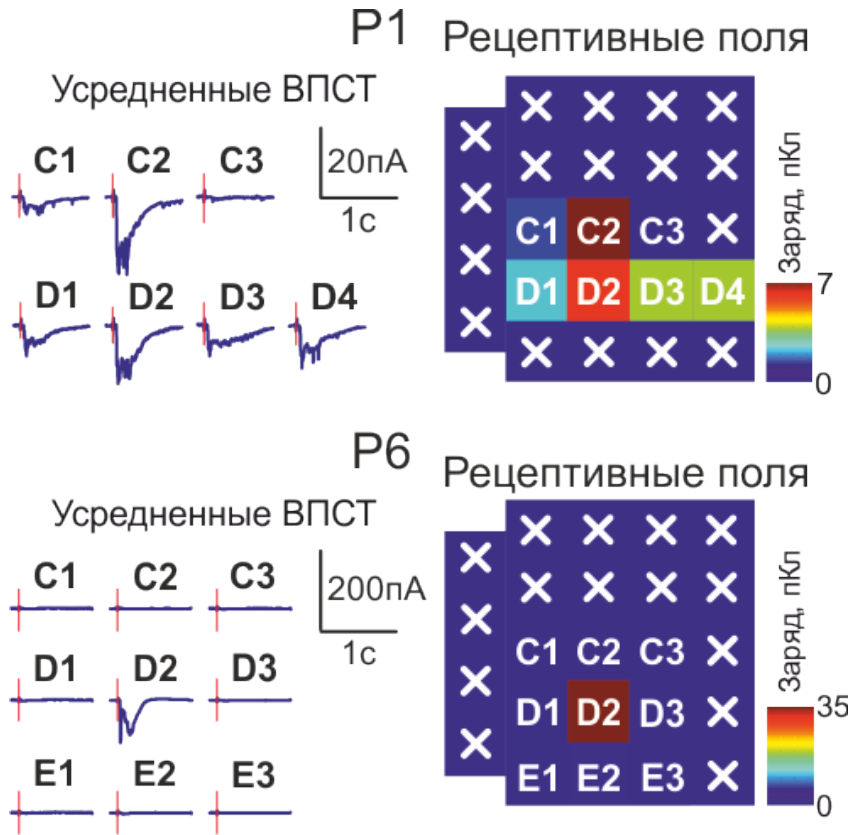


Рисунок 37 - Усредненные вызванные возбуждающие постсинаптические токи (ВПСТ), зарегистрированные методом whole-cell регистрации электрической активности нейронов кортикальной пластинки или гранулярного слоя баррельной коры (потенциал фиксации -70 мВ), и соответствующие им цветковые матрицы рецептивных полей у крысят в возрасте P1 и P6.

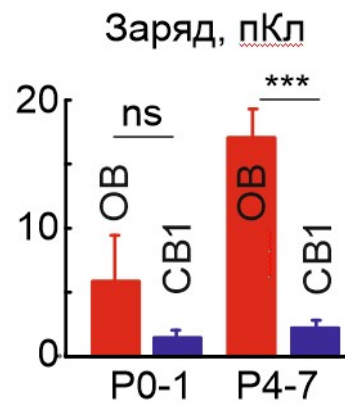


Рисунок 38 - Усредненные значения вызванных возбуждающих постсинаптических токов, вызванных стимуляцией OB и CB1

Примечание: Приведены данные по двум возрастным группам: крысят: P0–1 (n=6 клеток) и P4–7 (n=13 клеток).

Таким образом, для синаптических РП единичного кортикального нейрона тоже характерен переход от диффузного состояния на P0-1, характеризующегося мощными возбуждающими синаптическими ответами одного нейрона на стимуляцию разных вибрисс, к состоянию сегрегации, характеризующемуся преобладанием ответов, вызванных стимуляцией OB, перед ответами, вызванными стимуляцией CB.

4.5 Частотное кодирование в баррельной коре новорожденных крыс

Чтобы охарактеризовать частотную составляющую электрической активности, возникающей при стимуляции вибрисс на мордочке новорожденных крысят, мы исследовали ответы, вызываемые в отдельной кортикальной колонке соматосенсорной коры новорожденных крысят (в представительстве вибрисс) стимуляцией топографических (основной вибриссы) и нетопографических (соседних вибрисс) входов с помощью метода внеклеточной регистрации *in vivo* линейными многоканальными электродами на кремниевой подложке (Рисунок 39, n=44 крысенка в возрасте P2-P7).

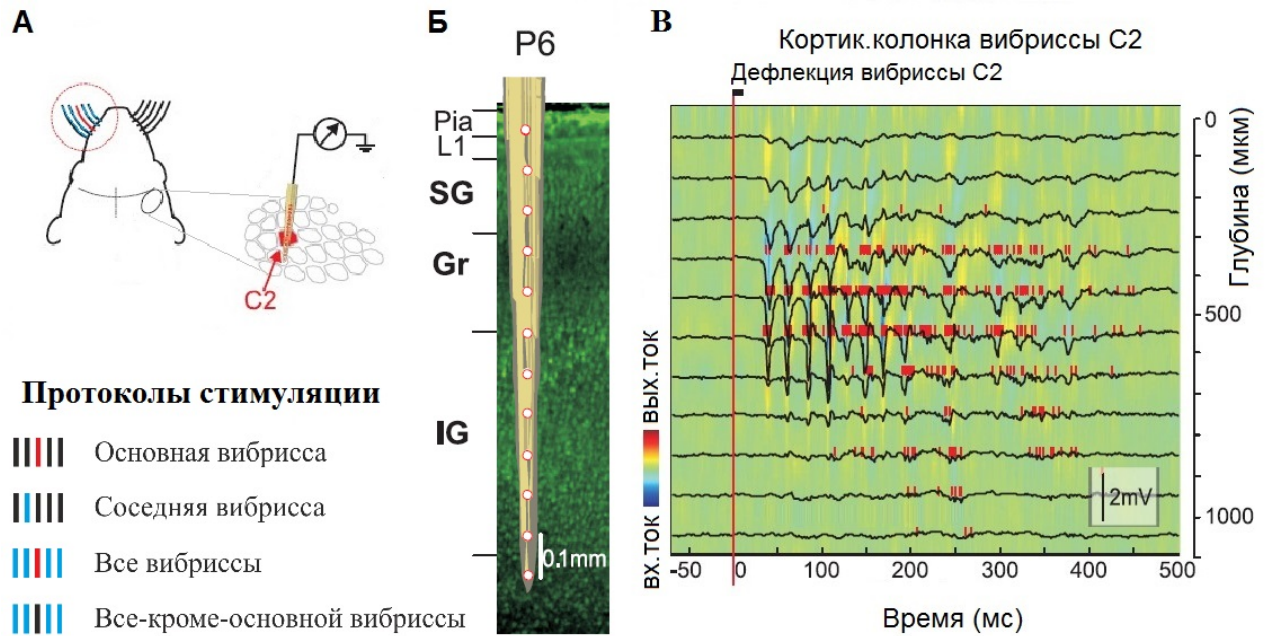


Рисунок 39 - Внеклеточная регистрация нейрональной активности в отдельной кортикальной колонке

(А) Схема эксперимента и протоколы стимуляции: красным обозначена стимуляция ОВ, синим – СВ, черным – вибрисс, не подвергавшихся стимуляции. (Б) Изображение регистрирующего линейного 16-канального электрода, наложенного на Stip2-окрашенный срез соматосенсорной коры. (В) Сенсорный ответ, вызываемый стимуляцией основной вибриссы C2 на разной глубине кортикальной колонки C2. Локальные полевые потенциалы (ЛПП) показаны черными линиями на фоне цветовой кодировки плотности источника токов. Потенциалы действия (ПД) обозначены красными штрихами. Pia – мягкая мозговая оболочка, L1 – I слой коры, SG – супрагранулярный слой (II и III слои), Gr – гранулярный слой (IV слой), IG – инфрагранулярный слой (V и VI слои). Модифицировано из Minlebaev et al., 2011 [219].

Для определения локализации кортикальных колонок, получающих сенсорный вход от данной вибриссы, мы использовали метод детекции внутреннего оптического сигнала – ВОС, который позволяет детектировать усиление поглощения кислорода в активированном участке коры (такое

свойство активной ткани также используется в технике функционального магнитного резонанса) (Рисунок 14). Наряду с этой методикой мы также использовали традиционный способ локализации колонки и поиск основной вибриссы по сенсорным ответам с короткой временной задержкой, основываясь на таблицах задержек как функции возраста (Рисунок 40).

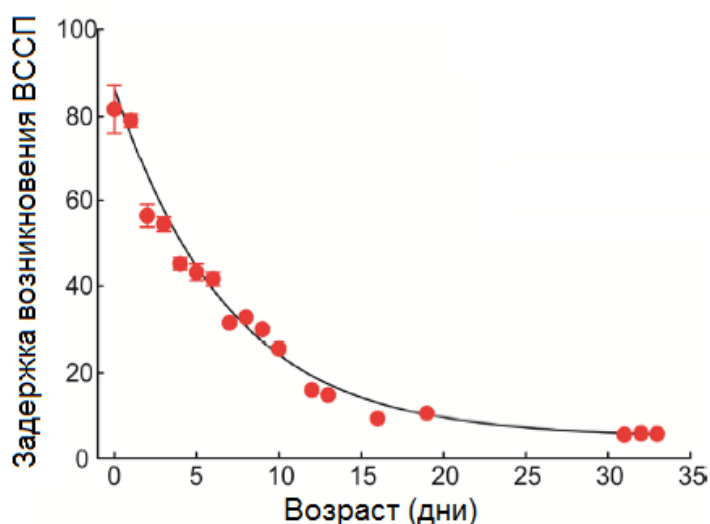


Рисунок 40 – Возрастная зависимость задержки возникновения вызванного соматосенсорного потенциала (ВССП) [219]

После размещения 16-канального электрода (расстояние между электродами 100 мкм) перпендикулярно поверхности коры на глубину 1,5 мм мы производили регистрацию спонтанной активности, а также активности, вызываемой механической дефлексией различных вибрисс. Для механической стимуляции вибрисс мы пользовались двумя основными приемами: пьезодефлексией одной вибриссы и короткими толчками воздуха через миниатюрную трубку на определенные вибриссы (Рисунок 39, 41).

Нами также использовались разные протоколы стимуляции толчками воздуха (Рисунок 39): (А) стимуляция только ОВ, (Б) одной СВ, (В) всех вибрисс и (Г) всех-кроме-основной вибрисс, последняя при этом помещалась в тонкую стеклянную трубку, доходящую до самого основания вибриссы, и

таким образом была защищена от потока воздуха. В ходе одной сессии мы снимали по 50-100 ответов на каждый вид стимуляции.

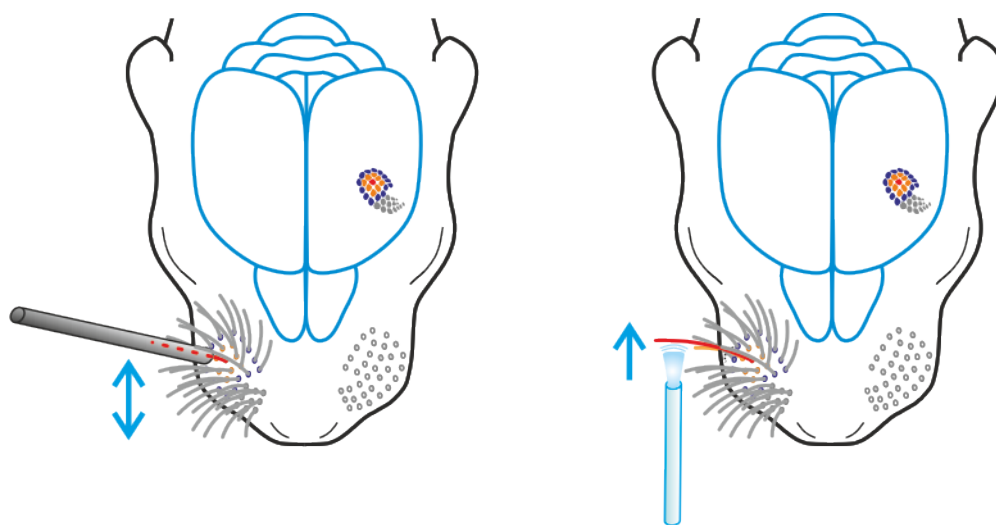


Рисунок 41 – Типы стимуляции вибрисс: пьезодефлексия (слева) и короткие толчки воздуха (справа)

На рисунке 42 показаны примеры ответов на разные типы стимуляции. В соответствии с результатами предыдущих исследований [219], стимуляция ОВ вызывала гамма-осцилляцию, которая длилась несколько сотен миллисекунд. ПД клеток гранулярного слоя этой колонки были строго привязаны во времени к негативным плечам гамма-осцилляции.

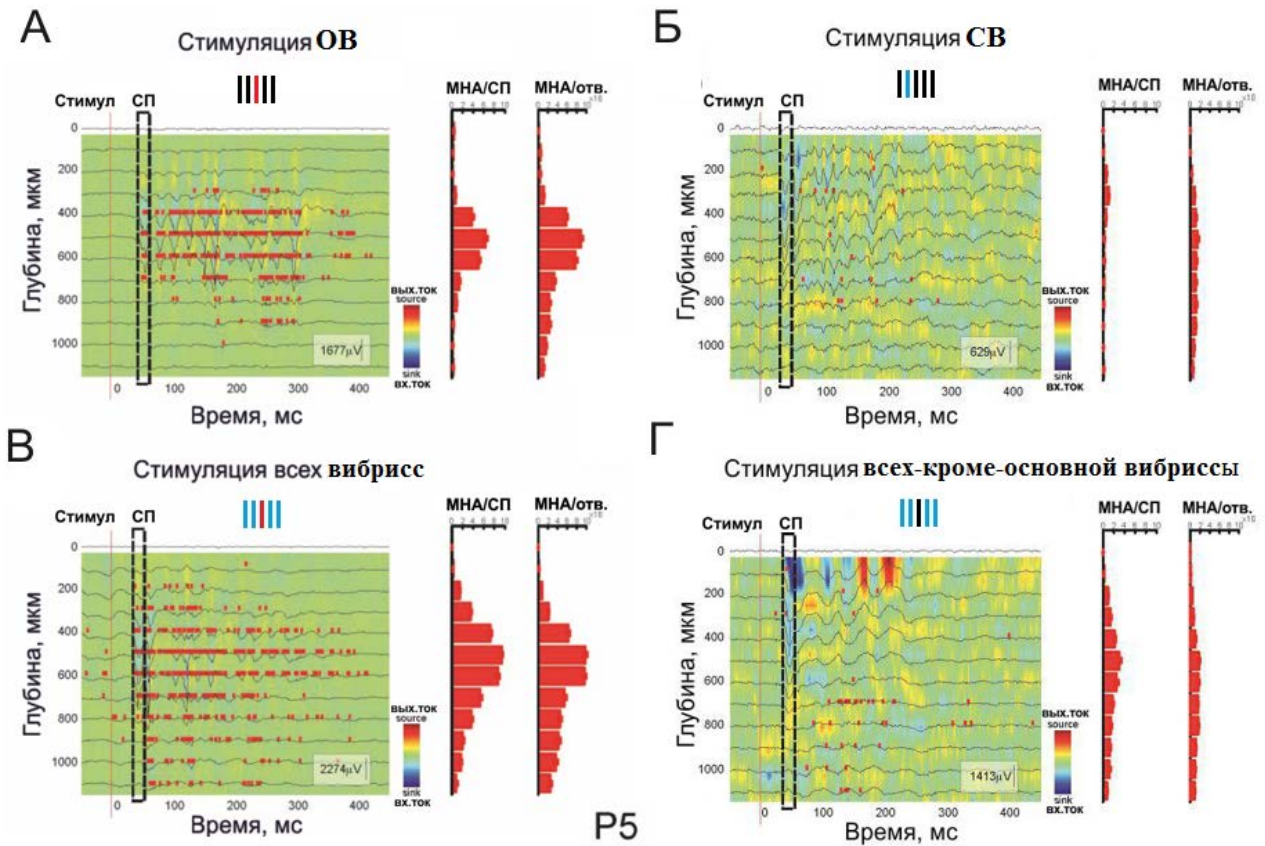


Рисунок 42 - Примеры ответов СЗ-кортикальной колонки, регистрируемых 16-канальным электродом, при разных протоколах стимуляции: основной вибриссы СЗ (А), всех вибрисс (Б), одной из соседних вибрисс (В), всех-кроме-основной вибрисс (Г) – вибрисса СЗ при этом спрятана от потока воздуха в стеклянную трубочку

Примечание: ЛПП показаны черными линиями на фоне плотности источника токов (определенной с помощью CSD). ПД обозначены красными штрихами. Гистограммы отражают плотность МНА во время ВССП (СП обведен пунктирной линией на записях слева) и за время всего ответа (500 мс после подачи стимула).

Непрерывный частотно-временной анализ (вейвлет) локальных потенциалов показал, что вызванные стимуляцией основной вибриссы ответы имеют доминантную частоту в гамма-диапазоне во время всего ответа (Рисунок 43).

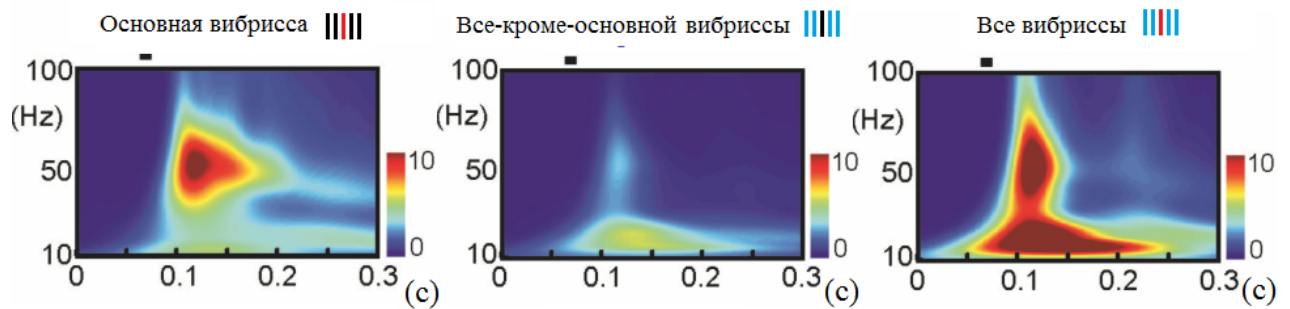


Рисунок 43 - Непрерывный частотно-временной анализ (вейвлет) сенсорных ответов в гранулярном слое одной кортикальной колонки при стимуляции различных сенсорных входов

Эта гамма-осцилляция перемежалась с более слабой осцилляторной активностью в более низких (альфа/бета) частотах. Дефлекции одиночных смежных вибрисс вызывала лишь пассивно проводящиеся гамма-осцилляции и слабую низкочастотную активность. Стимуляция всех вибрисс толчком воздуха, направленным на все вибриссы (в том числе и на основную), приводила к появлению осцилляторной активности, имеющей пики как в гамма-, так и в альфа/бета-диапазонах. Возбуждение нейронов было максимальным при стимуляции основной вибриссы и при стимуляции всех вибрисс и значительно ниже при стимуляции соседнего и всех-кроме-основной вибрисс (Рисунок 44).

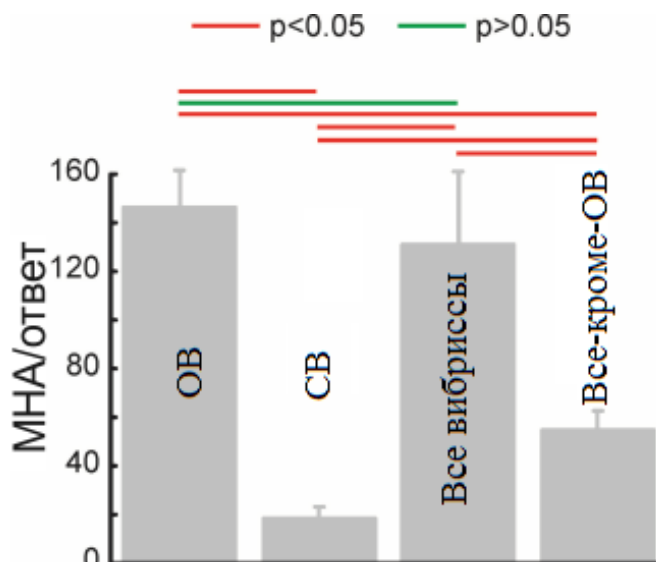


Рисунок 44 - Возбуждение нейронов слоя 4 одной кортикальной колонки в ответ на различные виды сенсорной стимуляции

Примечание: Статистические данные представляют усреднение (\pm стандартную девиацию) по 44 животным (P2-P7) для стимуляции основного и соседнего вибрисс (OB и CB соответственно), 27 со стимуляцией всех вибрисс и 7 со стимуляцией всех-кроме-основного вибрисс. Достоверность различий между различными условиями показана над колонками.

Нами также был проведен анализ когерентности между спайкованием нейронов гранулярного слоя и ЛПП (Рисунок 45), который выявил удивительную закономерность: в тех случаях, когда производилась стимуляция топографического входа (OB), пик когеренции между внеклеточным потенциалом и внеклеточно зарегистрированными ПД нейронов находился в гамма-диапазоне, в то время как при стимуляции CB (по отдельности или в режиме все-кроме-основной вибриссы) максимальная когерентность наблюдалась преимущественно в альфа/бета-диапазонах. Стимуляция всех вибрисс сопровождалась наличием пиков высокой когерентности как в альфа/бета-, так и в гамма-частотах, по-видимому, в результате наложения двух процессов - топографической гамма- и нетопографической альфа/бета-осцилляций. В результате когерентность в гамма-диапазоне специфично

возрастала при стимуляции ОВ, тогда как она была наивысшей в альфа/бета-диапазоне при стимуляции всех СВ. Эти наблюдения также поднимают вопрос о том, каким образом гамма- и альфа/бета-осцилляции взаимодействуют друг с другом, и в частности, каким образом происходит модуляция гамма-активности более медленными частотами в контексте обработки информации при стимуляции ОВ и СВ.

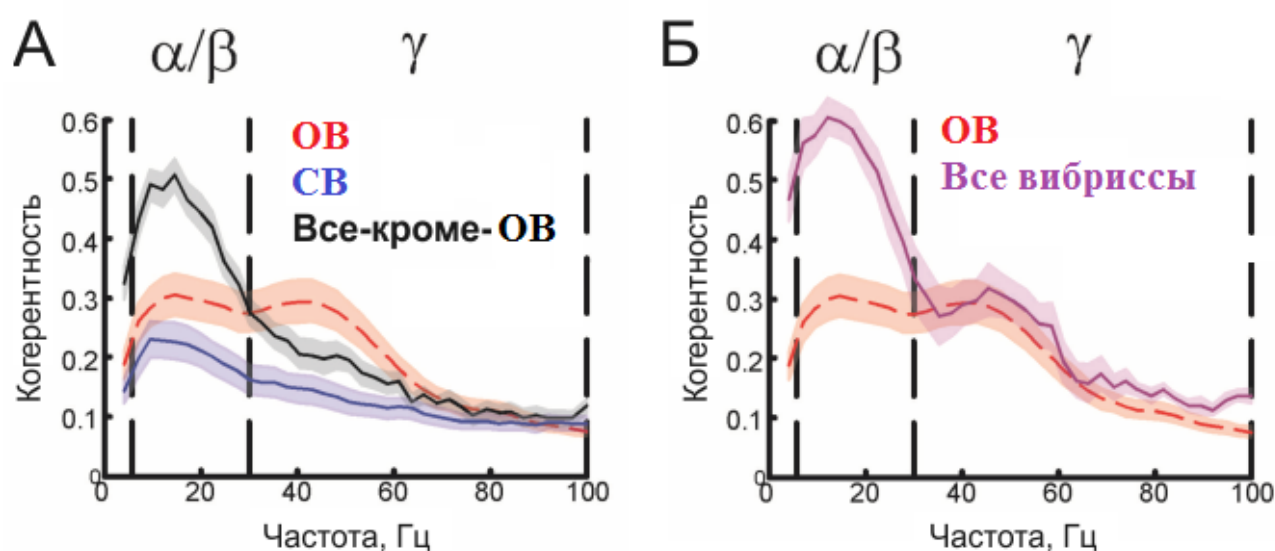


Рисунок 45 - Когерентность между локальным полевым потенциалом и потенциалами действия нейронов в 4-м слое кортикальной колонки при различных режимах стимуляции

Примечание: Статистические данные представляют усреднение (\pm стандартная девиация Джекнайфа) по 44 животным (P2—P7) для стимуляции основного и соседнего вибрисс, 27 со стимуляцией всех вибрисс и 7 со стимуляцией всех-кроме-основного вибрисс.

Данные результаты указывают на то, что сенсорный вход от вибрисс на морде к кортикальным колонкам у P2-P7 крысят уже топографически ограничен и вызывает специфичную активность в отдельных колонках посредством осцилляций в гамма-диапазоне. Напротив, альфа/бета-осцилляции, широко наблюдающиеся в соматосенсорной и зрительной коре,

свидетельствуют о межколонковой интеграции множественных сенсорных входов. Эти наблюдения чрезвычайно интересны в плане синаптической пластичности, поскольку ритмическая стимуляция в гамма-диапазоне приводит к долговременной потенциации таламокортикальных синапсов во время первой недели после рождения, а стимуляция в альфа/бета-диапазоне приводит к долговременной депрессии [219]. Таким образом, можно предположить, что развитие топографических связей между таламусом и корой обеспечивается этими двумя типами осцилляций: гамма-осцилляциями, которые специфично вызываются при активации топографического входа и способствуют его потенциации с последующей консолидацией этих топографических таламокортикальных синапсов, и альфа/бета-осцилляциями, которые активируются при стимуляции нетопографических входов (от соседних вибрисс) и приводят к депрессии и последующему устранению этих аберрантных нетопографических синапсов.

5 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши результаты свидетельствуют о том, что рецептивные поля в баррельной коре крыс при рождении не являются четко очерченными. Размытость ранних рецептивных полей может отражать грубые (не отрегулированные) перекрывающиеся связи в развивающейся баррельной системе. У крыс баррелеты в стволе мозга имеются уже при рождении [55, 318], тогда как баррелоиды в вентропостеромедиальном ядре таламуса (VPM) еще находятся в процессе образования в первые дни после рождения [24]. Однако, в исследованиях на мышах было показано, что имеет место «отсекание» избыточных лемнискальных входов на таламические нейроны [16, 340]. У крыс таламические афференты достигают кортикальной пластинки к моменту рождения [100, 223, 266, 50]. Хотя вопрос о топографически четком соответствии таламокортикальных проекций в момент рождения крыс и мышей все еще обсуждается [263, 281, 3, 50, 195, 6], изначальная организация таламических аксонов не представлена баррелями [100, 167, 6]. К возрасту P2 таламические аксоны начинают организовываться в баррелоподобные структуры, и уже к возрасту P4 проявляется взрослый паттерн баррелей, в котором таламокортикальные аксоны организованы в бочковидные пучки, а таламические баррелоиды топографически проецируются на баррелы в коре [100, 3, 266, 6]. На постсинаптическом уровне цитоархитектоническое образование баррелей и дифференциация 4-го слоя коры в кортикальной пластинке начинается приблизительно в возрасте P3, что было показано на кошках и крысах [267, 34, 167, 6]. На ранней стадии постнатального развития клетки 4-го слоя баррельной коры не имеют дендритной ориентации, однако на протяжении первой постнатальной недели они градуально ориентируют свои дендриты по направлению к участкам терминалей таламокортикальных аксонов, соответствующих определенным вибриссам, группируясь вокруг этих аксонов. В этом задействован процесс НМДА-Р-зависимого устранения нейрональных ответвлений в соседние баррели [104]. Кроме того, в первые дни

после рождения прямое торможение (feedforward inhibition), которое обуславливает границы временного окна интеграции таламических входов и вносит вклад в окружающее ингибирование [17], отсутствует. Наконец, огромное количество молчащих НМДА-Р-таламокортикальных синапсов [105, 145], в совокупности с высоким сродством НМДА-рецепторов к глутамату [250, 251] и большим межклеточным пространством [300], может приводить к переизбытку и паракринному действию глутамата, высвобождаемого из таламических аксонов и удаленно расположенных конусов роста [189]. Все вышеперечисленные анатомические и функциональные свойства подвержены быстрым изменениям в процессе развития, что может играть определенную роль в сегрегации рецептивных полей в ходе постнатального развития.

Несмотря на тот факт, что первоначально количество таламокортикальных синапсов невелико и они слабы, к тому же большая их часть содержит «молчащие» НМДА-рецепторы и «молчит» при МПП (мембранном потенциале покоя) [105, 145], сенсорная стимуляция вызывала устойчивые возбуждающие постсинаптические токи (ВПСТ), ЛПП и МНА ответы в коре при рождении, а в период от P0 до P2-3 МНА ответы претерпевают изменения в сторону взрослого типа. В генерацию подобных устойчивых ответов при рождении, вероятно, вовлечена мощная, опосредованная НМДА- и каинатными рецепторами временная суммация медленных токов в незрелых таламокортикальных синапсах [217, 218, 184], которая приводит к обширной деполяризации в обладающей высоким (в районе гигаОм) сопротивлением мембране незрелых нейронов [202, 343]. Другим фактором, задействованным в возникновении подобного рода ответов в ранний период после рождения, может служить ранее упомянутая недостаточность обратного торможения и обширное (неопределенное в клетках с недостаточной ГАМКергической иннервацией) временное окно интеграции возбуждающих входов [77, 219].

Наши результаты поддерживают гипотезу о том, что развитие сенсорной зоны проходит этап первоначального формирования базового протомапа

посредством внутренних механизмов, с последующей настройкой, регулируемой нейрональной активностью [261, 175, 98]. Мы обнаружили, что уже у новорожденных присутствует определенный уровень точности кортикальной локализации сенсорного сигнала: стимуляция одной вибриссы вызывает максимальный ответ в пределах ожидаемой области баррельной коры, а стимуляция соседних вибрисс первого и второго порядка (по удаленности от основной вибриссы) вызывает, соответственно, градуально снижающийся ответ. Соматотопическая организация активности при рождении также была показана в работе Янга и его коллег при комбинировании методов окрашивания регистрируемых областей мозга потенциал-чувствительными красителями и внеклеточной регистрации нейрональной активности. Авторы в своей работе сделали заключение, что у крысят уже при рождении баррельная кора имеет довольно точную локализацию сенсорных ответов, хотя уровень точности не оценивался [337]. Наши результаты позволяют предложить следующую модель развития зоны представительства вибрисс: баррели развиваются не с чистого листа, но и не пребывают в изначально детерминированном виде, т.е. имеется некоторое промежуточное состояние, в котором врожденные механизмы обеспечивают грубую топографию на субколонковом уровне. Дальнейшая более тонкая структурная организация зоны в виде колонок происходит в первые 2-3 дня после рождения, этот процесс характеризуется конкурентными взаимоотношениями между вибриссами. Мы предполагаем, что наблюдаемые нами грубо перекрывающиеся между собой ответы, вызываемые стимуляцией вибрисс, служат инструментом в такого рода физиологической настройке. К возрасту P2-3, когда устанавливается соматотопическое соответствие, дальнейшее топографическое созревание таламокортикальных синапсов посредством потенциации поддерживается ранними гамма-осцилляциями [219].

Критический период характеризуется рядом особенностей в свойствах таламокортикальных синапсов: наличием большого количества НМДА-рецепторов (вплоть до 80% глутаматергических синапсов на P0 являются

исключительно НМДА-опосредованными, так называемыми «молчащие» синапсы, причем НМДА-рецепторы имеют более длительную кинетику открываний по сравнению со взрослыми вследствие экспрессии NR2B-субъединицы, значительным вкладом каинатных рецепторов, и, что очень важно, колоссальным уровнем долговременной пластичности, причем как потенциации, так и депрессии [105, 108]. Роль этих двух форм пластичности как прекурсоров последующей стабилизации или элиминации синапсов является довольно хорошо доказанной. Интересно, что пластичность, вызываемая в таламокортикальных синапсах путем ритмической стимуляции таламического входа и сопряженного возбуждения клеток 4-го слоя коры, зависит от частоты ритмического входа: так, если стимуляция производится в альфа-частотном диапазоне, то это приводит к депрессии синапсов, а стимуляция в гамма-диапазоне приводит к потенциации [219].

Ранее было показано, что во время первой постнатальной недели сенсорный вход от внешних стимулов или сенсорной реафферентации в результате спонтанных движений [179] запускает характерные ранние осцилляторные паттерны (РОП) в соответствующих областях коры. Исследования с использованием стимуляции сравнительно больших рецептивных полей показали наличие сенсорно-вызванных РОП в различных частотных диапазонах, особенно альфа/бета и гамма [179, 218, 336, 64]. Недавно Минлебаевым было показано, что гамма-осцилляции специфично вызываются стимуляцией основной вибриссы [219]. В связи с этим возникла гипотеза о том, что топография сенсорного входа может кодироваться в частоте, вызываемой РОП: топографический вход кодируется в гамма-частоте, а нетопографический — в альфа/бета-частотах. Действительно, оказалось, что при стимуляции топографического входа (основной вибриссы), пик когеренции между внеклеточным потенциалом и ПД нейронов находился в гамма-диапазоне, в то время как при стимуляции соседних вибрисс (по отдельности или в режиме "все-кроме-основной вибриссы") максимальная когерентность наблюдалась преимущественно в альфа/бета-диапазонах. Стимуляция всех

вибрисс сопровождалась наличием пиков высокой когерентности как в альфа/бета-, так и в гамма-частотах. В результате когерентность в гамма-диапазоне специфично возрастала при стимуляции ОВ, тогда как она была наивысшей в альфа/бета- диапазоне при стимуляции множественных СВ.

6 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Во время первых двух дней после рождения (P0-1) стимуляция соседних сенсорных входов вызывала нейрональную активность в одном и том же участке регистрации, тогда как на более поздних возрастах (P2-7) ответ в регистрируемой области баррельной коры возникал на стимуляцию только одного сенсорного входа.

В возрасте P0-1 рецептивные поля нескольких соседних сенсорных входов перекрываются в одном кортикальном участке, т.е. рецептивные поля носят диффузный характер, в то время как, начиная с P2-3, проявляется взрослый тип вызванного ответа, где один сенсорный вход проецирует лишь в свое представительство в баррельной коре.

Аналогичный возрастной профиль характерен и для развивающихся сенсорных входов: ранний постнатальный период характеризуется дивергентными сенсорными проекциями на неокортекс. Однако в ходе созревания проекционные поля вибрисс также сегрегируются, что может быть объяснено присутствием двух уникальных ритмов активности, связанных с топографичностью сенсорного входа и активирующих противоположно направленные механизмы пластичности. Соответствующий сенсорный вход кодируется гамма-частотой, в то время как альфа-бета-активность ассоциирована с активацией нетопографических сенсорных входов.

7 ВЫВОДЫ

1. Во время первых двух дней после рождения (P0-1) стимуляция разных вибрисс вызывала в кортикальной пластинке электрический ответ в виде характерных дефлексий локального полевого потенциала, ассоциированных с множественной нейрональной активностью, в одном и том же участке регистрации, тогда как на более поздних возрастах (P2-7), ответ в регистрируемой области баррельной коры возникал на стимуляцию только одной, максимум двух вибрисс, и отклонение соседних вибрисс никакого ответа в данной области не вызывало.

2. В возрасте P0-1 рецептивные поля нескольких рядом расположенных вибрисс перекрываются в одном кортикальном участке, т.е. рецептивные поля носят диффузный характер, при этом в ответах наблюдается большая предпочтительность к стимуляции соседних вибрисс по горизонтали, чем по вертикали.

3. Начиная с P2-3, проявляется взрослый тип вызванного ответа - сегрегированный тип рецептивных полей, где одна вибрисса проецирует лишь в свое представительство в баррельной коре: уменьшается общее количество вибрисс, вызывающих множественную нейрональную активность, практически полностью элиминируются ответы от соседних вибрисс, которые составляли бы по величине более половины от множественной нейрональной активности, вызванной стимуляцией основной вибриссы.

4. У крысят в возрасте P0-1 множественная нейрональная активность, вызванная стимуляцией одной вибриссы, наблюдалась во множестве участков баррельной коры, т.е. в раннем постнатальном периоде сенсорные входы от отдельных вибрисс представляют собой широкие перекрывающиеся кортикальные проекционные поля. В ходе созревания проекционные поля вибрисс уменьшаются и не перекрываются друг с другом.

5. Для синаптических рецептивных полей единичного кортикального нейрона тоже характерен переход от диффузного состояния на P0-1,

характеризующегося мощными возбуждающими синаптическими ответами одного нейрона на стимуляцию разных вибрисс, к состоянию сегрегации, характеризующемуся преобладанием ответов, вызванных стимуляцией основной вибриссы, перед ответами, вызванными стимуляцией соседних вибрисс.

6. Вызванные стимуляцией основной вибриссы ответы имели вид гамма-осцилляций, перемежавшихся с более слабой осцилляторной активностью в более низких (альфа/бета-) частотах. Дефлексии одиночных соседних вибрисс вызывала лишь пассивно проводящиеся гамма-осцилляции и слабую низкочастотную активность. Стимуляция всех вибрисс толчком воздуха, направленным на все вибриссы (в том числе и на основную), приводила к появлению осцилляторной активности, имеющей пики как в гамма-, так и в альфа/бета- диапазонах. Возбуждение нейронов было максимальным при стимуляции основной вибриссы и при стимуляции всех вибрисс и значительно ниже при стимуляции соседней вибриссы и всех вибрисс, кроме основной.

7. При стимуляции топографического сенсорного входа (основной вибриссы), пик когеренции между локальным полевым потенциалом и внеклеточными потенциалами действия нейронов находился в гамма-диапазоне, в то время как при стимуляции соседних вибрисс (по отдельности или в режиме все-кроме-основной) максимальная когерентность наблюдалась преимущественно в альфа/бета-диапазонах. Стимуляция всех вибрисс сопровождалась наличием пиков высокой когерентности как в альфа/бета-, так и в гамма-частотах. В результате когерентность в гамма-диапазоне специфично возрастала при стимуляции основной вибриссы, тогда как она была наивысшей в альфа/бета- диапазоне при стимуляции множества соседних вибрисс.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

5-НТ	серотонин
АМПА	α -амино-3-гидроксил-5-метил-4-изоксазол-пропионат
ВОС	внутренний оптический сигнал
ВПСП	возбуждающий постсинаптический потенциал
ВССП	вызванный соматосенсорный потенциал
ГАМК	гамма-аминомасляная кислота
ГДП	гигантский деполяризующий потенциал
ИОН, ION	инфраорбитальный нерв
КП, СР	кортикальная пластинка
ЛПП	локальный полевой потенциал
МЗ	маргинальная зона
МНА	множественная нейрональная активность
МПП	мембранный потенциал покоя
МЭГ	магнитоэнцефалография / магнитоэнцефаограмма
НМДА	N-метил-D-аспартат
НЭ	норэпинефрин
ОВ	основная вибрисса
ОКК	основная кортикальная колонка
ПД	потенциал действия
ПП	проекционное поле
РГО	ранняя гамма-осцилляция
РОП	ранний осцилляторный паттерн
РП	рецептивное поле
СВ (1, 2)	соседняя вибрисса (первого, второго порядка)
СВП	спайково-временная пластичность
СП	сенсорный потенциал
ТКА	таламокортикальный аксон
ТМА	транзиент медленной активности

XI	хирургическая изоляция
ЭЭГ	электроэнцефалография / электроэнцефаограмма
APV	(2R)-амино-5-фосфовалериановая кислота
CNQX	6-циано-7-нитрокинаксалин-2,3-дион
CSD	анализ плотностей источников тока
DTB	конечный мозг
Gr	гранулярный слой
IG	инфрагранулярный слой
IZ	промежуточная зона развивающейся коры головного мозга
KCC2	калий-хлор-котранспортер
MZ	маргинальная зона
NKCC1	натрий-калий-хлор-котранспортер
P	постнатальный день
PrV	основное чувствительное ядро тройничного нерва
PP	препластинка
PSPB	паллиально-субпаллиальная (мантийно-субмантийная) граница развивающейся коры головного мозга
S1	первичная соматосенсорная кора
SEM	стандартная ошибка
SG	супрагранулярный слой
SP	субпластинка
SVZ	субвентрикулярная зона
TG	ганглий тройничного нерва
VPM	вентро-постерио-медиальное ядро таламуса
VZ	вентрикулярная зона
WM	белое вещество головного мозга
WP	область морды с подвижными вибриссами

КРАТКИЙ СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ

- Баррель – анатомическая бочонковидная структура в IV слое соматосенсорной коры, соматотопически соответствующая вибриссе на мордочке животного.
- Баррельная кора (баррель-кортекс) – представительство вибрисс в соматосенсорной коре головного мозга животных, имеющих подвижные вибриссы на морде.
- Вибриссы – осязательные механочувствительные длинные жёсткие волосы многих млекопитающих, выступающие над поверхностью шерстного покрова.
- Гестация – период вынашивания плода в матке.
- Критический период развития – промежуток времени, в течение которого для нормального развития необходимо наличие специфических внешних или внутренних условий, тогда как отсутствие таких условий приводит к необратимым изменениям в организме.
- Основная вибрисса – вибрисса, представительство которой находится в данной (регистрируемой) кортикальной колонке соматосенсорной коры.
- Паттерн активности – характерный ритм регистрируемой электрической активности.
- Сенсорная депривация – частичное или полное исчезновение одного или более органов чувств внешнего воздействия.
- Соседняя вибрисса первого порядка – вибрисса, находящаяся в непосредственной близости от основной вибриссы.
- Соседняя вибрисса второго порядка - вторая по дальности от основной вибриссы.
- Спайк – внеклеточно зарегистрированный потенциал действия одного нейрона.
- Спайкование – генерация потенциалов действия.

ЛІТЕРАТУРА

1. Adelsberger H., Garaschuk O., Konnerth A. Cortical calcium waves in resting newborn mice // *Nat Neurosci.* - 2005. – V. 8. – P. 988-990.
2. Loss of adenylyl cyclase I activity disrupts patterning of mouse somatosensory cortex / R.M. Abdel-Majid, W.L. Leong, L.C. Schalkwyk, D.S. Smallman, S.T. Wong, D.R. Storm, A. Fine, M.J. Dobson, D.L. Guernsey, P.E. Neumann // *Nature genetics.* – 1998. - V. 19. – P. 289-291.
3. Topological precision in the thalamic projection to neonatal mouse barrel cortex / A. Agmon, L.T. Yang, E.G. Jones, D.K. O'Dowd // *J. Neurosci.* – 1995. – V. 15. – P. 549-561.
4. Agmon A., Hollrigel G., O'Dowd D.K. Functional GABAergic synaptic connection in neonatal mouse barrel cortex // *J Neurosci.* – 1996. - V. 16. – P. 4684-4695.
5. Akerman C.J., Grubb M.S., Thompson I.D. Spatial and temporal properties of visual responses in the thalamus of the developing ferret // *J Neurosci.* - 2004. – V. 24. – P. 170-182.
6. Alifragis P., Molnar Z., Parnavelas J.G. Restricted expression of Slap-1 in the rodent cerebral cortex // *Gene Expr. Patterns.* – 2003. –V. 3. – P. 437-440.
7. Sequential generation of two distinct synapse-driven network patterns in developing neocortex / C. Allene, A. Cattani, J.B. Ackman, P. Bonifazi, L. Aniksztejn, Y. Ben-Ari, R. Cossart // *J Neurosci.* - 2008. – V. 28. – P. 12851-12863.
8. Allene C., Cossart R. Early NMDA receptor-driven waves of activity in the developing neocortex: physiological or pathological network oscillations? / *J Physiol.* - 2010. – V. 588. - P. 83-91.
9. Amzica F., Steriade M. Cellular substrates and laminar profile of sleep K-complex // *Neuroscience.* - 1998. – V. 82. – P. 671-686.
10. Anderson C.M., Torres F., Faoro A. The EEG of the early premature // *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* - 1985. – V. 60. - P. 95-105.

11. Electroencephalography in premature and full-term infants. Developmental features and glossary / M. André, M.D. Lamblin, A.M. d'Allest, L. Curzi-Dascalova, F. Moussalli-Salefranque, S.N.T. Tich, M.F. Vecchierini-Blineau, F. Wallois, E. Walls-Esquivel, P. Plouin // *Neurophysiologie clinique/Clinical neurophysiology*. – 2010. – V. 40. P. 59-124.
12. Antonini A., Fagiolini M., Stryker M.P. Anatomical correlates of functional plasticity in mouse visual cortex // *The Journal of neuroscience*. – 1999. – V. 19. – P. 4388-4406.
13. Dynamics of ongoing activity: explanation of the large variability in evoked cortical responses / A. Arieli, A. Sterkin, A. Grinvald, A. Aertsen // *Science*. - 1996. – V. 273. – P. 1868-1871.
14. Armstrong-James M., Fox K., Das-Gupta A. Flow of excitation within rat barrel cortex on striking a single vibrissa // *J.Neurophysiol*. – 1992. – V. 68. – P. 1345-1358.
15. Armstrong-James M., Fox K. Spatiotemporal convergence and divergence in the rat S1 "barrel" cortex // *J.Comp Neurol*. – 1987. – V. 263. – P. 265-281.
16. Arsenault D., Zhang Z.W. Developmental remodelling of the lemniscal synapse in the ventral basal thalamus of the mouse // *J.Physiol*. – 2006. – V. 573. – P. 121-132.
17. NMDA receptors regulate developmental gap junction uncoupling via CREB signaling / H. Arumugam, X. Liu, P.J. Colombo, R.A. Corriveau, A.B. Belousov // *Nat Neurosci*. - 2005. – V. 8. – P. 1720-1726.
18. mGluR5 in cortical excitatory neurons exerts both cell-autonomous and nonautonomous influences on cortical somatosensory circuit formation / C.J. Ballester-Rosado, M.J. Albright, C.S. Wu, C.C. Liao, J. Zhu, J. Xu, L.J. Lee, H.C. Lu // *The Journal of neuroscience*. – 2010. – V. 30. – P. 16896-16909.
19. Developmental changes in AMPA and kainate receptor-mediated quantal transmission at thalamocortical synapses in the barrel cortex / N.J. Bannister, T.A. Benke, J. Mellor, H. Scott, E. Gurdal, J.W. Crabtree, J.T.R. Isaac // *J Neurosci*. - 2005. – V. 25. – P. 5259-5271.

20. Baram T.Z., Snead O.C. Bicuculline induced seizures in infant rats: ontogeny of behavioral and electrocortical phenomena // *Dev Brain Res.* - 1990. – V. 57. – P. 291-295.
21. Barth A.L., Malenka R.C. NMDAR EPSC kinetics do not regulate the critical period for LTP at thalamocortical synapses // *Nature Neuroscience.* - 2001. – V. 4. – P. 235-236.
22. Bartos M., Vida I., Jonas P. Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks // *Nat Rev Neurosci.* - 2007. – V. 8. – P. 45-56.
23. Bates C.A., Killackey H.P. The organization of the neonatal rat's brainstem trigeminal complex and its role in the formation of central trigeminal patterns // *Journal of Comparative Neurology.* – 1985. – V. 240. – P. 265-287.
24. Belford G.R., Killackey H.P. The development of vibrissae representation in subcortical trigeminal centers of the neonatal rat // *J.Comp Neurol.* – 1979. – V. 188. – P. 63-74.
25. Belford G.R., Killackey H.P. The sensitive period in the development of the trigeminal system of the neonatal rat // *Journal of Comparative Neurology.* – 1980. – V. 193. – P. 335-350.
26. GABA: A pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations / Y. Ben Ari, J.L. Gaiarsa, R. Tyzio, R. Khazipov // *Physiol Rev.* – 2007. – V. 87. – P. 1215-1284.
27. Giant synaptic potentials in immature rat CA3 hippocampal neurones / Y. Ben-Ari, E. Cherubini, R. Corradetti, J.-L. Gaiarsa // *J Physiol (Lond).* - 1989. – V. 416. – P. 303-325.
28. GABAA, NMDA and AMPA receptors: a developmentally regulated 'ménage a trois' / Y. Ben-Ari, R. Khazipov, X. Leinekugel, O. Caillard, J.-L. Gaiarsa // *Trends Neurosci.* - 1997. – V. 20. – P. 523-529.
29. Berger H. Uber das elektrenkephalogramm des menschen // *European archives of psychiatry and clinical neuroscience.* – 1933. – V. 98. – P. 231-254.

30. Berridge C.W., Waterhouse B.D. The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes / *Brain Res Brain Res Rev.* - 2003. – V. 42. – P. 33-84.
31. Blankenship A.G., Feller M.B. Mechanisms underlying spontaneous patterned activity in developing neural circuits // *Nat Rev Neurosci.* - 2010. – V. 11. – P. 18-29.
32. Synaptic and extrasynaptic factors governing glutamatergic retinal waves / A.G. Blankenship, K.J. Ford, J. Johnson, R.P. Seal, R.H. Edwards, D.R. Copenhagen, M.B. Feller // *Neuron.* - 2009. – V. 62. - 230-241.
33. Blue M.E., Parnavelas J.G. The formation and maturation of synapses in the visual cortex of the rat // I. Qualitative analysis. *J Neurocytol.* - 1983. – V. 12. – P. 599-616.
34. Blue M.E., Erzurumlu R.S., Jhaveri S. A comparison of pattern formation by thalamocortical and serotonergic afferents in the rat barrel field cortex // *Cereb.Cortex.* – 1991. – V. 1. P. 380-389.
35. Blumberg M.S., Lucas D.E. Dual mechanisms of twitching during sleep in neonatal rats // *Behav Neurosci.* - 1994. – V. 108. – P. 1196-1202.
36. Glutamate controls the induction of GABA-mediated giant depolarizing potentials through AMPA receptors in neonatal rat hippocampal slices / Bolea S., Avignone E., Berretta N., Sanchez-Andres J.V., Cherubini E. // *J Neurophysiol.* - 1999. – V. 81. – P. 2095-2102.
37. Borgdorff A.J., Poulet J.F., Petersen C.C. Facilitating sensory responses in developing mouse somatosensory barrel cortex // *J Neurophysiol.* – 2007. – V. 97. - 2992-3003
38. Borg-Graham L.J., Monier C., Fregnac Y. Visual input evokes transient and strong shunting inhibition in visual cortical neurons // *Nature.* - 1998. – V. 393. – P. 369-373.
39. Anatomical pathways involved in generating and sensing rhythmic whisker movements / L.W. Bosman, A.R. Houweling, C.B. Owens, N. Tanke, O.T. Shevchouk, N. Rahmati, W.H. Teunissen, C. Ju, W. Gong, S.K. Koekkoek // *Frontiers in integrative neuroscience.* – 2011. – V. 5. – P. 53.

40. Bourgeois J.P., Rakic P. Synaptogenesis in the occipital cortex of Macaque monkey devoid of retinal input from early embryonic stages // *Suppl Eur J Neurosci.* 1996. – V. 8. – P. 942-950.
41. Bureau I., Shepherd G.M., Svoboda K. Precise development of functional and anatomical columns in the neocortex // *Neuron.* - 2004. – V. 42. – P. 789-801.
42. Burkhalter A., Bernardo K.L., Charles V. Development of local circuits in human visual cortex // *J Neurosci.* - 1993. – V. 13. –P. 1916-1931.
43. Buzsaki G. *Rhythms of the Brain.* – Oxford University Press, 2006.
44. Callaway E.M., Katz L.C. Emergence and refinement of clustered horizontal connections in cat striate cortex // *J Neurosci.* - 1990. – V. 10. – P. 1134-1153.
45. Development of precise maps in visual cortex requires patterned spontaneous activity in the retina / J.Cang, R.C. Renteria, M. Kaneko, X. Liu, D.R. Copenhagen, M.P. Stryker // *Neuron.* - 2005. – V. 48. – P. 797-809.
46. Carmignoto G., Vicini S. Activity-dependent decrease in NMDA receptor responses during development of the visual cortex // *Science.* - 1992. – V. 258. P. 1007-1011.
47. Carvell G.E., Simons D.J. Membrane potential changes in rat SmI cortical neurons evoked by controlled stimulation of mystacial vibrissae // *Brain Res.* – 1988. – V. 448. – P. 186-191.
48. Lack of barrels in the somatosensory cortex of monoamine oxidase AGAYdeficient mice: role of a serotonin excess during the critical period / O. Cases, T. Vitalis, I. Seif, E. De Maeyer, C. Sotelo, P. Gaspar // *Neuron.* – 1996. – V. 16. –P. 297-307.
49. Catalano S.M., Shatz C.J. Activity-dependent cortical target selection by thalamic axons // *Science.* - 1998. – V. 281. – P. 559-562.
50. Catalano S.M., Robertson R.T., Killackey H.P. Individual axon morphology and thalamocortical topography in developing rat somatosensory cortex // *J.Comp Neurol.* – 1996. – V. 367. P. 36-53.

51. Chagnac-Amitai Y., Connors B.W. Horizontal spread of synchronized activity in neocortex and its control by GABA-mediated inhibition // *J Neurophysiol.* - 1989. – V. 61. – P. 747-758.
52. Chance F.S., Abbott L.F., Reyes A.D. Gain modulation from background synaptic input // *Neuron.* - 2002. – V. 35. –P. 773-782.
53. Evidence for an Instructive Role of Retinal Activity in Retinotopic Map Refinement in the Superior Colliculus of the Mouse / A.R. Chandrasekaran, D.T. Plas, E. Gonzalez, M.C. Crair // *J Neurosci.* - 2005. – V. 25. – P. 6929-6938.
54. Chapman B., Stryker M.P. Development of orientation selectivity in ferret visual cortex and effects of deprivation // *J Neurosci.* - 1993. – V. 13. – P. 5251-5262.
55. Evidence for prenatal competition among the central arbors of trigeminal primary afferent neurons / N.L. Chiaia, C.A. Bennett-Clarke, M. Eck, F.A. White, R.S. Crissman, R.W. Rhoades // *J.Neurosci.* – 1992. – V. 12. – P. 62-76.
56. Postnatal blockade of cortical activity by tetrodotoxin does not disrupt the formation of vibrissa-related patterns in the rat's somatosensory cortex / N.L. Chiaia, S.E. Fish, W.R. Bauer, C.A. Bennett-Clarke, R.W. Rhoades // *Developmental brain research.* – 1992. – V. 66. – P. 244-250.
57. Chittajallu R., Isaac J.T. Emergence of cortical inhibition by coordinated sensory-driven plasticity at distinct synaptic loci // *Nat Neurosci.* - 2010. – V. 13. – P. 1240-1248.
58. Chiu C., Weliky M. Spontaneous activity in developing ferret visual cortex in vivo // *J Neurosci.* - 2001. – V. 21. – P. 8906-8914.
59. Chiu C., Weliky M. Relationship of correlated spontaneous activity to functional ocular dominance columns in the developing visual cortex // *Neuron.* - 2002. – V. 35. – P. 1123-1134.
60. Cioni G., Prechtl H.F. Preterm and early postterm motor behaviour in low-risk premature infants // *Early Hum Dev.* - 1990. – V. 23. – P. 159-191.
61. Clancy B., Darlington R.B., Finlay B.L. Translating developmental time across mammalian species // *Neuroscience.* - 2001. – V. 105. – P. 7-17.

62. Early determination of a mouse somatosensory cortex marker / M. Cohen-Tannoudji, C. Babinet, M. Wassef // *Nature*. – 1994. – V. 368. – P. 460-463.
63. A conserved switch in sensory processing prepares developing neocortex for vision / M.T. Colonnese, A. Kaminska, M.Minlebaev, M. Milh, B. Bloem, S. Lescure, G. Moriette, C. Chiron, Y. Ben-Ari, R. Khazipov // *Neuron*. - 2010. – V. 67. - P. 480-498.
64. Colonnese M.T., Khazipov R. "Slow activity transients" in infant rat visual cortex: a spreading synchronous oscillation patterned by retinal waves // *J Neurosci*. - 2010. – V. 30. – P. 4325-4337.
65. Colonnese S., Rinauro S., Scarano G. Generalized method of moments estimation of location parameters: application to blind phase acquisition // *Signal Processing, IEEE Transactions on*. – 2010. – T. 58. – №. 9. – C. 4735-4749.
66. Connell J.A., Oozeer R., Dubowitz V. Continuous 4-channel EEG monitoring: a guide to interpretation, with normal values, in preterm infants // *Neuropediatrics*. - 1987. – V. 18. – P. 138-145.
67. Spatiotemporal patterns of spindle oscillations in cortex and thalamus / D. Contreras, A. Destexhe, T.J. Sejnowski, M. Steriade // *J Neurosci*. – 1997. – V. 17. – P. 1179-1196.
68. Contreras D., Timofeev I., Steriade M. Mechanisms of long-lasting hyperpolarizations underlying slow sleep oscillations in cat corticothalamic networks // *J Physiol*. - 1996. – V. 494 (Pt 1). - P. 251-264.
69. Crair M.C., Malenka R.C. A critical period for long-term potentiation at thalamocortical synapses // *Nature*. - 1995. – V. 375. P. 325-328.
70. A parturition-associated nonsynaptic coherent activity pattern in the developing hippocampus / V. Crepel, D. Aronov, I. Jorquera, A. Represa., Y. Ben Ari., R. Cossart // *Neuron*. - 2007. – V. 54. – P. 105-120.
71. Crowley J.C., Katz L.C. Development of ocular dominance columns in the absence of retinal input // *Nat Neurosci*. - 1999. – V. 2. – P. 1125-1130.
72. Sleep state organization in premature infants of less than 35 weeks' gestational age / L. Curzi-Dascalova, J.M. Figueroa, M. Eiselt, E. Christova, A. Virassamy, A.M.

- d'Allest, H. Guimaraes, C. Gaultier, M. Dehan // *Pediatr Res.* - 1993. – V. 34. – P. 624-628.
73. Glutamate receptor blockade alters the development of intracortical connections in rat barrel cortex / E. Dagnew, K. Latchamsetty, J.P. Erinjeri, B. Miller, K. Fox, T.A. Woolsey // *Somatosens Mot Res.* - 2003. V. 20. – P. 77-84.
74. Dan Y., Poo M.M. Spike timing-dependent plasticity: from synapse to perception // *Physiol Rev.* - 2006. – V. 86. - P. 1033-1048.
75. NMDA receptor-dependent pattern transfer from afferents to postsynaptic cells and dendritic differentiation in the barrel cortex. *Molecular and Cellular* / A. Datwani, T. Iwasato, S. Itohara, R.S. Erzurumlu // *Neuroscience.* – 2002.- V. 21. – P. 477-492.
76. Daw M.I., Bannister N.V., Isaac J.T.R. Rapid, activity-dependent plasticity in timing precision in neonatal barrel cortex // *J Neurosci.* - 2006. – V. 26. – P. 4178-4187.
77. Daw M.I., Ashby M.C., Isaac J.T. Coordinated developmental recruitment of latent fast spiking interneurons in layer IV barrel cortex // *Nat Neurosci.*- 2007. – V. 10. – P. 453-461.
78. Daw N.W., Daw N.W. *Visual development* // Springer. – 2006.
79. Dawson D.R., Killackey H.P. The organization and mutability of the forepaw and hindpaw representations in the somatosensory cortex of the neonatal rat // *Journal of Comparative Neurology.* – 1987. – V. 256. – P. 246-256.
80. De Gennaro L, Ferrara M. Sleep spindles: an overview // *Sleep Medicine Reviews,* - 2003. – V. 7. – P. 423-440.
81. De la Prida L.M., Bolea S., Sanchez-Andres J.V. Origin of the synchronized network activity in the rabbit developing hippocampus // *Eur J Neurosci.* - 1998. – V. 10. P. 899-906.
82. de Vries J.I., Visser G.H., Prechtl H.F. The emergence of fetal behaviour // I. Qualitative aspects. *Early Hum Dev.* - 1982. – V. 7. – P. 301-322.

83. Dekaban A.S., Sadowsky D. Changes in brain weights during the span of human life: relation of brain weights to body heights and body weights // *Annals of neurology*. – 1978. – V. 4. – P. 345-356.
84. Deng L., Kaeser P. S., Xu W., Südhof T. C. RIM proteins activate vesicle priming by reversing autoinhibitory homodimerization of Munc13 // *Neuron*. – 2011. – T. 69. – №. 2. – C. 317-331.
85. Destexhe A., Rudolph M., Pare D. The high-conductance state of neocortical neurons in vivo // *Nat Rev Neurosci*. - 2003. – V. 4. – P. 739-751.
86. Postnatal differentiation of basket cells from slow to fast signaling devices / D. Doischer, J.A. Hosp, Y. Yanagawa, K. Obata, P. Jonas, I. Vida, M. Bartos // *J Neurosci*. - 2008. – V. 28. – P. 12956-12968.
87. Dreyfus-Brisac C. The electroencephalogram of the premature infant // *World Neurol*. - 1962. – V. 3. – P. 5-15.
88. Veille sommeil et reactivite sensorielle chez le premature et le nouveau-ne / C. Dreyfus-Brisac, H. Fischgold, D. Samson-Dollfus, S. Saint-Anne Dargassies, T. Ziegler, N. Monod, C. Blanc // *Electroencephalogr Clin Neurophysiol*. - 1956. – V. 6. – P. 418-440.
89. Dreyfus-Brisac C., Larroche J.C. Discontinuous electroencephalograms in the premature newborn and at term. Electro-anatomo-clinical correlations // *Rev Electroencephalogr Neurophysiol Clin*. - 1971. – V. 1. – P. 95-99.
90. Rapid developmental switch in the mechanisms driving early cortical columnar networks / E.Dupont, I.L. Hanganu, W. Kilb, S. Hirsch, H.J. Luhmann // *Nature*. - 2006. – V. 439. – P. 79-83.
91. Durack J.C., Katz L.C. Development of horizontal projections in layer 2/3 of ferret visual cortex // *Cereb Cortex*. - 1996. – V. 6. – P. 178-183.
92. Durand G.M., Kovalchuk Y., Konnerth A. Long-term potentiation and functional synapse induction in developing hippocampus // *Nature*. - 1996. – V. 381. – P. 71-75.

93. Durham D, Woolsey TA. Effects of neonatal whisker lesions on mouse central trigeminal pathways // *Journal of Comparative Neurology*. – 1984. – V. 223. – P. 424-447.
94. NKCC1 transporter facilitates seizures in the developing brain / V.I. Dzhala, D.M. Talos, D.A. Sdrulla, A.C. Brumback, G.C. Mathews, T.A. Benke, E. Delpire, F.E. Jensen, K.J. Staley // *Nat Med*. - 2005. – V. 11. – P. 1205-1213.
95. Ellingson R.J. Electroencephalograms of normal, full-term newborns immediately after birth with observations on arousal and visual evoked responses // *Electroencephalogr Clin Neurophysiol Suppl*. - 1958. – V. 10. – P. 31-50.
96. Engel R. C. H. Abnormal electroencephalograms in the neonatal period. – Charles C. Thomas Publisher, 1975.
97. Erzurumlu R.S., Jhaveri S. Thalamic axons confer a blueprint of the sensory periphery onto the developing rat somatosensory cortex // *Brain Res Dev Brain Res*. - 1990. – V. 56. –P. 229-234.
98. Erzurumlu RS, Gaspar P. Development and critical period plasticity of the barrel cortex // *Eur.J.Neurosci*. – 2012. – V. 35. – P. 1540-1553.
99. Erzurumlu RS, Iwasato T. Patterning of the somatosensory maps with NMDA receptors // *Anonymous Development and plasticity in sensory thalamus and cortex/Springer*. – 2006. – P. 158-182.
100. Erzurumlu RS, Jhaveri S. Thalamic axons confer a blueprint of the sensory periphery onto the developing rat somatosensory cortex // *Brain Res.Dev.Brain Res*. – 1990. – V. 56. – P. 229-234.
101. Erzurumlu R.S., Killackey H.P. Development of order in the rat trigeminal system // *Journal of Comparative Neurology*. – 1983. – V. 213. P. 365-380.
102. Erzurumlu R.S., Kind P.C. Neural activity: sculptor of 'barrels' in the neocortex // *Trends in neurosciences*. – 2001. – V. 24. – P. 589-595.
103. Erzurumlu R.S. Critical period for the whisker-barrel system // *Experimental neurology*.- 2010. – V. 222. – P. 10-12.

104. Uncoupling dendrite growth and patterning: single-cell knockout analysis of NMDA receptor 2B / J.S. Espinosa, D.G. Wheeler, R.W. Tsien, L. Luo // *Neuron*. – 2009. – V. 62. – P. 205-217.
105. Feldman D.E., Nicoll R.A., Malenka R.C. Synaptic plasticity at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex: LTP, LTD, and silent synapses // *J Neurobiol.* - 1999. – V. 41. – P. 92-101.
106. Long-term depression at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex / D.E. Feldman, R.A. Nicoll, R.C. Malenka, J.T. Isaac // *Neuron*. - 1998. – V. 21. – P. 347-357.
107. Feldman D.E., Nicoll R.A., Malenka R.C. Synaptic plasticity at thalamocortical synapses in developing rat somatosensory cortex: LTP, LTD, and silent synapses // *J Neurobiol.* – 1999. – V. 41. – P. 92-101.
108. Feldman D.E. Synaptic mechanisms for plasticity in neocortex // *Annu.Rev Neurosci.* – 2009. – V. 32. – P. 33-55.
109. Feller M.B., Scanziani M. A precritical period for plasticity in visual cortex // *Curr Opin Neurobiol.* - 2005. – V. 15. –P. 94-100.
110. Ferezou I., Bolea S., Petersen C.C.H. Visualizing the cortical representation of whisker touch: Voltage-sensitive dye imaging in freely moving mice // *Neuron*. - 2006. – V. 50. – P. 617-629.
111. Fiser J., Chiu C., Weliky M. Small modulation of ongoing cortical dynamics by sensory input during natural vision // *Nature*. - 2004. – V. 431. – P. 573-578.
112. Foeller E., Feldman D.E. Synaptic basis for developmental plasticity in somatosensory cortex // *Current Opinion in Neurobiology.* - 2004. – V. 14. – P. 89-95.
113. Foote S.L., Morrison J.H. Development of the noradrenergic, serotonergic, and dopaminergic innervation of neocortex // *Curr Top Dev Biol.* – 1987. – V. 21. – P. 391-423.
114. Foote S.L., Morrison J.H. Extrathalamic modulation of cortical function // *Annu Rev Neurosci.* – 1987. – V. 10. – P. 67-95.

115. Fox K. A critical period for experience-dependent synaptic plasticity in rat barrel cortex // *J Neurosci.* - 1992. – V. 12. – P. 1826-1838.
116. Fox K. Anatomical pathways and molecular mechanisms for plasticity in the barrel cortex // *Neuroscience.* - 2002. – V. 111. – P. 799-814.
117. Armstrong-James M., Fox K., Das-Gupta A. Flow of excitation within rat barrel cortex on striking a single vibrissa // *Journal of Neurophysiology.* – 1992. – V. 68. – №. 4. – P. 1345-1358.
118. Glutamate receptor blockade at cortical synapses disrupts development of thalamocortical and columnar organization in somatosensory cortex / K. Fox, B.L. Schlaggar, S. Glazewski, D.D. O'Leary // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 1996. – V. 93. – P. 5584-5589.
119. Fox K., Wong R.O.L. A comparison of experience-dependent plasticity in the visual and somatosensory systems // *Neuron.* - 2005. – V. 48. – P. 465-477.
120. The origin of cortical surround receptive fields studied in the barrel cortex / Fox K., Wright N., Wallace H., Glazewski S. // *J Neurosci.* - 2003. – V. 23. – P. 8380-8391.
121. Frank M.G., Heller H.C. Development of REM and slow wave sleep in the rat // *Am J Physiol.* - 1997. – V. 272. – P. 1792-1799.
122. Freund T., Buzsaki G. Interneurons of the hippocampus // *Hippocampus* – V. 6. – P. 345-470.
123. Fries P. Neuronal gamma-band synchronization as a fundamental process in cortical computation // *Annu Rev Neurosci.* - 2009. – V. 32. – P. 209-224.
124. Fukuchi-Shimogori T, Grove E.A. Neocortex patterning by the secreted signaling molecule FGF8 // *Science.* – 2001. – V. 294. – P. 1071-1074.
125. Developmental emergence of power-law wake behavior depends upon the functional integrity of the locus coeruleus / A.J. Gall, B. Joshi, J. Best, V.R. Florang, J.A. Doorn, M.S. Blumberg // *Sleep.* - 2009. – V. 32. – P. 920-926.
126. Galli L., Maffei L. Spontaneous impulse activity of rat retinal ganglion cells in prenatal life // *Science* – V. 242. – P. 90-91.

127. Galuske R.A., Singer W. The origin and topography of long-range intrinsic projections in cat visual cortex: a developmental study // *Cereb Cortex*. - 1996. – V. 6. – P. 417-430.
128. Gao X.B., Chen G., van den Pol A.N. GABA-dependent firing of glutamate-evoked action potentials at AMPA/kainate receptors in developing hypothalamic neurons // *J Neurophysiol*. - 1998. – V. 79. – P. 716-726.
129. Large-scale oscillatory calcium waves in the immature cortex / O. Garaschuk, J. Linn, J. Eilers, A. Konnerth // *Nature*. - 2000. – V. 3. – P. 452-459.
130. Silent synapses in the developing hippocampus: lack of functional AMPA receptors or low probability of glutamate release? / S. Gasparini, C. Saviane, L.L. Voronin, E. Cherubini // *Proc Natl Acad Sci U S A*. -2000. – V. 97. – P. 9741-9746.
131. Structural basis for map formation in the thalamocortical pathway of the barrelless mouse / F. Gheorghita, R. Kraftsik, R. Dubois, E. Welker // *The Journal of neuroscience*. – 2006. – V. 26. –P. 10057-10067.
132. Gitton Y., Cohen-Tannoudji M., Wassef M. Role of thalamic axons in the expression of H-2Z1, a mouse somatosensory cortex specific marker // *Cerebral Cortex*. – 1999. – V. 9. – P. 611-620.
133. The development of innate sleep rhythms in short gestation infants / L. Goldie, U. Svedsen-Rhodes, J. Easton, N.R. Robertson // *Dev Med Child Neurol*. - 1971. – V. 13. – P. 40-50.
134. Internally mediated developmental desynchronization of neocortical network activity / P. Golshani, J.T. Goncalves, S. Khoshkhoo, R. Mostany, S. Smirnakis, C. Portera-Cailliau // *J Neurosci*. - 2009. – V. 29. – P. 10890-10899.
135. Gramsbergen A. The development of the EEG in the rat / *Dev Psychobiol*. - 1976. – V. 9. – P. 501-515.
136. Gray C.M., Singer W. Stimulus-specific neuronal oscillations in orientation columns of cat visual cortex // *Proc Natl Acad Sci U S A*. - 1989. – V. 86. – P. 1698-1702.
137. Abnormal functional organization in the dorsal lateral geniculate nucleus of mice lacking the beta 2 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor / M.S. Grubb,

- F.M. Rossi, J.P. Changeux, I.D. Thompson // *Neuron*. - 2003. – V. 40. – P. 1161-1172.
138. Gullledge A.T., Stuart G.J. Excitatory actions of GABA in the cortex // *Neuron*. - 2003. – V. 37. – P. 299-309.
139. Haider B., McCormick D.A. Rapid neocortical dynamics: cellular and network mechanisms // *Neuron*. - 2009. – V. 62. – P. 171-189.
140. Hamburger V. Fetal behavior // In: E S Hafez (Ed) *The Mammalian Fetus: Comparitive Biology and Methodology* Charles C Thomas, Springfield. - 1975. – P. 69-81.
141. Hanganu I.L., Ben Ari Y., Khazipov R. Retinal waves trigger spindle bursts in the neonatal rat visual cortex // *J Neurosci*. – V. 26. – P. 6728-6736.
142. Cholinergic modulation of spindle bursts in the neonatal rat visual cortex in vivo / Hanganu I.L., Staiger J.F., Ben Ari Y., Khazipov R. // *J Neurosci*. - 2007. – V. 27. – P. 5694-5705.
143. PLC- γ -1, activated via mGluRs, mediates activity-dependent differentiation in cerebral cortex / A.J. Hannan, C. Blakemore, A. Katsnelson, T. Vitalis, K.M. Huber, M. Bear, J. Roder, D. Kim, H.S. Shin, P.C. Kind // *Nature neuroscience*. – 2001. – V. 4. – P. 282-288.
144. Hannan AJ, Kind PC, Blakemore C. Phospholipase C- γ -1 expression correlates with neuronal differentiation and synaptic plasticity in rat somatosensory cortex // *Neuropharmacology*. – 1998. – V. 37. – P. 593-605.
145. Hanse E, Seth H, Riebe I. AMPA-silent synapses in brain development and pathology // *Nat.Rev.Neurosci*. – 2013. – V. 14. – P. 839-850.
146. Hebb D.O. *The organization of behaviour* // New York: John Wiley and Sons.
147. Henderson TA, Woolsey TA, Jacquin MF. Infraorbital nerve blockade from birth does not disrupt central trigeminal pattern formation in the rat // *Developmental brain research*. – 1992. – V. 66. – P. 146-152.
148. Henley J., Poo M.M. Guiding neuronal growth cones using Ca²⁺ signals // *Trends Cell Biol*. - 2004. – V. 14. – P. 320-330.

149. Local GABA circuit control of experience-dependent plasticity in developing visual cortex / T.K. Hensch, M. Fagiolini, N. Mataga, M.P. Stryker, S. Baekkeskov, S.F. Kash // *Science*. - 1998. – V. 282. – P. 1504-1508.
150. Hensch T.K. Critical period mechanisms in developing visual cortex // *Current topics in developmental biology*. – 2005. – V. 69. – P. 215-237.
151. Hensch TK. Critical period regulation // *Annu.Rev.Neurosci.* – 2004. – V. 27. – P. 549-579.
152. Hestrin S. Developmental regulation of NMDA receptor-mediated synaptic currents at a central synapse / *Nature*. - 1992. – V. 357. – P. 686-689.
153. Prenatal development of neural excitation in rat thalamocortical projections studied by optical recording / S. Higashi, Z. Molnar, T. Kurotani, K. Toyama // *Neuroscience*. - 2002. – V. 115. – P. 1231-1246.
154. BDNF regulates the maturation of inhibition and the critical period of plasticity in mouse visual cortex / Z.J. Huang, A. Kirkwood, T. Pizzorusso, V. Porciatti, B. Morales, M.F. Bear, L. Maffei, S. Tonegawa // *Cell*. - 1999. – V. 98. – P. 739-755.
155. Hubel D.H., Wiesel T.N. The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens // *J Physiol (Lond)*. - 1970. – V. 206. – P. 419-436.
156. Huberman A.D., Feller M.B., Chapman B. Mechanisms underlying development of visual maps and receptive fields // *Annu Rev Neurosci*. - 2008. – V. 31. – P. 479-509.
157. Huttenlocher P.R., Dabholkar A.S. Regional differences in synaptogenesis in human cerebral cortex // *J Comp Neurol*. - 1997. – V. 387. – P. 167-178.
158. Huttenlocher P.R. Synaptic density in human frontal cortex-developmental changes and effects of aging // *Brain Res*. – 1979. – V. 163. – P. 195-205.
159. Inan M., Crair M.C. Development of cortical maps: perspectives from the barrel cortex // *The Neuroscientist*. – 2007. – V. 13. – P. 49-61.
160. Inan M., Lu H.C., Albright M.J., She W.C., Crair M.C. Barrel map development relies on protein kinase a regulatory subunit II⁺-mediated cAMP signaling // *The Journal of neuroscience*. – 2006. – V. 26. – P. 4338-4349.

161. Silent synapses during development of thalamocortical inputs / J.T.R. Isaac, M.C. Crair, R.A. Nicoll, R.C. Malenka // *Neuron*. - 1997. – V. 18. – P. 269-280.
162. Isaac J.T.R., Nicoll R.A., Malenka R.C. Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP // *Neuron*. - 1995. – V. 15. – P. 427-434.
163. Cortex-restricted disruption of NMDAR1 impairs neuronal patterns in the barrel cortex / T. Iwasato, A. Datwani, A.M. Wolf, H. Nishiyama, Y. Taguchi, S. Tonegawa, T. Knöpfel, R.S. Erzurumlu, S. Itohara // *Nature*. – 2000. – V. 406. – P. 726-731.
164. Cortical adenylyl cyclase 1 is required for thalamocortical synapse maturation and aspects of layer IV barrel development / T. Iwasato, M. Inan, H. Kanki, R.S. Erzurumlu, S. Itohara, M.C. Crair // *The Journal of neuroscience*. – 2008. – V. 28. – P. 5931-5943.
165. Cortex-restricted disruption of NMDAR1 impairs neuronal patterns in the barrel cortex / T. Iwasato, A. Datwani, A.M. Wolf, H. Nishiyama, Y. Taguchi, S. Tonegawa, T. Knöpfel, R.S. Erzurumlu, S. Itohara // *Nature*. - 2000. – V. 406. – P. 726-731.
166. Jensen K.F., Killackey H.P. Terminal arbors of axons projecting to the somatosensory cortex of the adult rat. I. The normal morphology of specific thalamocortical afferents // *The Journal of neuroscience*. – 1987. – V. 7. – P. 3529-3543.
167. Jhaveri S, Erzurumlu RS, Crossin K. Barrel construction in rodent neocortex: role of thalamic afferents versus extracellular matrix molecules // *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.* – 1991. – V. 88. – P. 4489-4493.
168. Johnston M.V., Coyle J.T. Development of central neurotransmitter systems // *Ciba Found Symp.* - 1981. – V. 86. – P. 251-270.
169. Jouvet-Mounier D., Astic L., Lacote D. Ontogenesis of the states of sleep in rat, cat, and guinea pig during the first postnatal month // *Dev Psychobiol.* -- 1970. – V. 2. – P. 216-239.

170. RIM proteins tether Ca²⁺ channels to presynaptic active zones via a direct PDZ-domain interaction / P.S. Kaeser, L. Deng, Y. Wang, I. Dulubova, X. Liu, J. Rizo, T.C. Südhof // *Cell*. – 2011. – V. 144. – P. 282-295.
171. Kandler K., Thiels E. Flipping the switch from electrical to chemical communication // *Nat Neurosci*. - 2005. – V. 8. – P. 1633-1634.
172. Karlsson K.A., Blumberg M.S. Active medullary control of atonia in week-old rats // *Neuroscience*. - 2005. – V. 130. – P. 275-283.
173. The neural substrates of infant sleep in rats / Karlsson K.A., Gall A.J., Mohns E.J., Seelke A.M., Blumberg M.S. // *PLoS Biol*. - 2005. – V. 3. - P. 143.
174. Katz L.C., Crowley J.C. Development of cortical circuits: lessons from ocular dominance columns // *Nat Rev Neurosci*. - 2002. – V. 3. – P. 34-42.
175. Katz L.C., Shatz C.J. Synaptic activity and the construction of cortical circuits // *Science*. - 1996. – V. 274. – P. 1133-1138.
176. Katz R. J., Roth K. A., Carroll B. J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 1981. – T. 5. – №. 2. – C. 247-251.
177. Kerschensteiner D., Wong R.O. A precisely timed asynchronous pattern of ON and OFF retinal ganglion cell activity during propagation of retinal waves // *Neuron*. - 2008. – V. 58. – P. 851-858.
178. Khazipov R., Luhmann H.J. Early patterns of electrical activity in the developing cerebral cortex of humans and rodents // *Trends Neurosci*. – 2006. – V. 29. – P. 414-418.
179. Early motor activity drives spindle bursts in the developing somatosensory cortex / R. Khazipov, A. Sirota, X. Leinekugel, G.L. Holmes, Y. Ben Ari, G. Buzsaki // *Nature*. – 2004. – V. 432. – P. 758-761.
180. Developmental changes in GABAergic actions and seizure susceptibility in the rat hippocampus / R. Khazipov, I. Khalilov, R. Tyzio, E. Morozova, Y. Ben Ari, G.L. Holmes // *European Journal of Neuroscience*. – 2004. – V. 19. – P. 590-600.

181. Synchronization of GABAergic interneuronal network in CA3 subfield of neonatal rat hippocampal slices / R. Khazipov, X. Leinekugel, I. Khalilov, J.-L. Gaïarsa, Y. Ben-Ari // *J Physiol (Lond)*. - 1997. – V. 498. – P. 763-772.
182. Khazipov R., Ragozzino D., Bregestovski P. Kinetics and Mg²⁺ block of N-methyl-D-aspartate receptor channels during postnatal development of hippocampal CA3 pyramidal neurons // *Neuroscience*. - 1995. – V. 69. – P. 1057-1065.
183. Early motor activity drives spindle bursts in the developing somatosensory cortex / R. Khazipov, A. Sirota, X. Leinekugel, G.L. Holmes, Y. Ben Ari, G. Buzsaki // *Nature*. – 2004. – V. 432. – P. 758-761.
184. Kidd F.L., Isaac J.T. Developmental and activity-dependent regulation of kainate receptors at thalamocortical synapses // *Nature*. - 1999. – V. 400. – P. 569-573.
185. Kidd F. L., Isaac J. T. R. Glutamate transport blockade has a differential effect on AMPA and NMDA receptor-mediated synaptic transmission in the developing barrel cortex // *Neuropharmacology*. – 2000. – V. 39. – №. 5. – P. 725-732.
186. Killackey H.P., Dawson D.R. Expansion of the central hindpaw representation following fetal forelimb removal in the rat // *European Journal of Neuroscience*. – 1989. – V. 1. – P. 210-221.
187. Kivrak B.G., Erzurumlu R.S. Development of the principal nucleus trigeminal lemniscal projections in the mouse // *Journal of Comparative Neurology*. – 2013. – V. 521. – P. 299-311.
188. Kreider J.C., Blumberg M.S. Mesopontine contribution to the expression of active 'twitch' sleep in decerebrate week-old rats // *Brain Res*. - 2000. – V. 872. – P. 149-159.
189. Kullmann D.M., Asztely F. Extrasynaptic glutamate spillover in the hippocampus: evidence and implications // *Trends Neurosci*. – 1998. – V. 21. – P. 8-14.
190. Electroencephalography of the premature and term newborn. Maturational aspects and glossary // M.D. Lamblin, M. Andre, M.J. Challamel, L. Curzi-Dascalova, A.M. d'Allest, E. De Giovanni, F. Moussalli-Salefranque, Y. Navelet, P.

Plouin, M.F. Radvanyi-Bouvet, D. Samson-Dollfus, M.F. Vecchierini-Blineau // *Neurophysiol Clin.* - 1999. – V. 29. – P. 123-219.

191. Synaptic GABA(A) activation inhibits AMPA-kainate receptor-mediated bursting in the newborn (P0-P2) rat hippocamp / K. Lamsa, J.M. Palva, E. Ruusuvuori, K. Kaila, T. Taira // *J Neurophysiol.* - 2000. – V. 83. – P. 359-366.

192. Landers M., Philip Z.H. Development of rodent whisking: trigeminal input and central pattern generation // *Somatosens Mot Res.* - 2006. – V. 23. – P. 1-10.

193. Noradrenergic innervation of the developing and mature visual and motor cortex of the rat brain: a light and electron microscopic immunocytochemical analysis / M. Latsari, I. Dori, J. Antonopoulos, M. Chiotelli, A. Dinopoulos // *J Comp Neurol.* - 2002. – V. 445. – P. 145-158.

194. Activity-dependent presynaptic effect of serotonin 1B receptors on the somatosensory thalamocortical transmission in neonatal mice / A. Laurent, J.M. Goillard, O. Cases, Lebrand C., P. Gaspar, N. Ropert // *The Journal of neuroscience.* – 2002. – V. 22. – P. 886-900.

195. Exuberant thalamocortical axon arborization in cortex-specific NMDAR1 knockout mice / L.J. Lee, T. Iwasato, S. Itohara, R.S. Erzurumlu // *Journal of Comparative Neurology.* – 2005. – V. 485. – P. 280-292.

196. Lee L.J., Lo F.S., Erzurumlu R.S. NMDA receptor-dependent regulation of axonal and dendritic branching // *J Neurosci.* – 2005. – V. 25. – P. 2304-2311.

197. Lee H. K., Kameyama K., Huganir R. L., Bear M. F. NMDA induces long-term synaptic depression and dephosphorylation of the GluR1 subunit of AMPA receptors in hippocampus // *Neuron.* – 1998. – T. 21. – №. 5. – C. 1151-1162.

198. Correlated bursts of activity in the neonatal hippocampus in vivo / X. Leinekugel, R. Khazipov, R. Cannon, H. Hirase, Y. Ben Ari, G. Buzsaki // *Science.* - 2002. – V. 296. – P. 2049-2052.

199. Ca²⁺ oscillations mediated by the synergistic excitatory actions of GABA_A and NMDA receptors in the neonatal hippocampus / X. Leinekugel, I. Medina, I. Khalilov, Y. Ben-Ari, R. Khazipov // *Neuron.* - 1997. – V. 18. – P. 243-255.

200. Lo F.S., Guido W., Erzurumlu R.S. Electrophysiological properties and synaptic responses of cells in the trigeminal principal sensory nucleus of postnatal rats // *Journal of neurophysiology*. – 1999. – V. 82. – P. 2765-2775.
201. Loomis A. L., Harvey E. N., Hobart G. Potential rhythms of the cerebral cortex during sleep // *Science*. – 1935.
202. LoTurco J.J., Blanton M.G., Kriegstein A.R. Initial expression and endogenous activation of NMDA channels in early neocortical development // *J Neurosci*. - 1991. – V. 11. – P. 792-799.
203. GABA and glutamate depolarize cortical progenitor cells and inhibit DNA synthesis / J.J. LoTurco, D.F. Owens, M.J. Heath, M.B. Davis, A.R. Kriegstein // *Neuron*. - 1995. – V. 15. – P. 1287-1298.
204. Role of efficient neurotransmitter release in barrel map development / HC Lu, D.A. Butts, P.S. Kaeser, W.C. She, R. Janz, M.C. Crair // *The Journal of neuroscience*. – 2006. – V. 26. – P. 2692-2703.
205. Lu T., Trussell L.O. Mixed excitatory and inhibitory GABA-mediated transmission in chick cochlear nucleus // *The Journal of Physiology*. - 2001. – V. 535. – P. 125-131.
206. Luhmann H.J., Martinez Millan L., Singer W. Development of horizontal intrinsic connections in cat striate cortex // *Exp Brain Res*. - 1986. – V. 63. – P. 443-448.
207. Luhmann H.J., Prince D.A. Postnatal maturation of the GABAergic system in rat neocortex // *J Neurophysiol*. - 1991. – P. 247-263.
208. Ma P.M. Barrelettes: architectonic vibrissal representations in the brainstem trigeminal complex of the mouse. II. Normal postnatal development // *Journal of Comparative Neurology*. – 1993. – V. 327. – P. 376-397.
209. Marcano-Reik A.J., Blumberg M.S. The corpus callosum modulates spindle-burst activity within homotopic regions of somatosensory cortex in newborn rats // *Eur J Neurosci*. - 2008. – V. 28. – P. 1457-1466.
210. An abrupt developmental shift in callosal modulation of sleep-related spindle bursts coincides with the emergence of excitatory-inhibitory balance and a reduction

- of somatosensory cortical plasticity / A.J. Marcano-Reik, T. Prasad, J.A. Weiner, M.S. Blumberg // *Behav Neurosci.* - 2010. – V. 124. – P. 600-611.
211. Retinotopic map refinement requires spontaneous retinal waves during a brief critical period of development / T. McLaughlin, C.L. Torborg, M.B. Feller, D.D. O'Leary // *Neuron.* - 2003. – V. 40. – P. 1147-1160.
212. Mechawar N., Descarries L. The cholinergic innervation develops early and rapidly in the rat cerebral cortex: a quantitative immunocytochemical study // *Neuroscience.* - 2001. – V. 108. – P. 555-567.
213. Synchronous bursts of action potentials in ganglion cells of the developing mammalian retina / M. Meister, R.O. Wong, D.A. Baylor, C.J. Shatz // *Science.* - 1991. – V. 252. – P. 939-943.
214. Menendez d.l.P., Bolea S., Sanchez-Andres J.V. Analytical characterization of spontaneous activity evolution during hippocampal development in the rabbit // *Neurosci Lett.* - 1996. – V. 218. – P. 185-187.
215. Metin C., Frost D.O. Visual responses of neurons in somatosensory cortex of hamsters with experimentally induced retinal projections to somatosensory thalamus // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* – 1989. – V. 86. – P. 357-361.
216. Rapid cortical oscillations and early motor activity in premature human neonate / M. Milh, A. Kaminska, C. Huon, A. Lapillonne, Y. Ben Ari, R. Khazipov // *Cerebral Cortex.* - 2007. – V. 17. – P. 1582-1594.
217. Minlebaev M., Ben Ari Y., Khazipov R. NMDA receptors pattern early activity in the developing barrel cortex in vivo // *Cereb.Cortex.* – 2009. – V. 19. – P. 688-696.
218. Minlebaev M., Ben-Ari Y., Khazipov R. Network mechanisms of spindle-burst oscillations in the neonatal rat barrel cortex in vivo // *Journal of Neurophysiology.* – 2007. – V. 97. – P. 692-700.
219. Early gamma oscillations synchronize developing thalamus and cortex / M. Minlebaev, M. Colonnese, T. Tsintsadze, A. Sirota, R. Khazipov // *Science.* – 2011. – V. 334. – P. 226-229.
220. Mitrovic N., Mohajeri H., Schachner M. Effects of nmda receptor blockade in the developing rat somatosensory cortex on the expression of the gliagapderived

- extracellular matrix glycoprotein tenascin-gpc // *European Journal of Neuroscience*. – 1996. – V. 8. – P. 1793-1802.
221. Miyamoto H., Katagiri H., Hensch T. Experience-dependent slow-wave sleep development // *Nat Neurosci*. - 2003. – V. 6. – P. 553-554.
222. Mohs E.J., Blumberg M.S. Synchronous bursts of neuronal activity in the developing hippocampus: modulation by active sleep and association with emerging gamma and theta rhythms // *J Neurosci*. - 2008. – V. 28. – P. 10134-10144.
223. Development of functional thalamocortical synapses studied with current source-density analysis in whole forebrain slices in the rat / Z. Molnar, T. Kurotani, S. Higashi, N. Yamamoto, K. Toyama // *Brain Research Bulletin*. – 2003. – V. 60. – P. 355-371.
224. Molnar Z., Higashi S., Lopez-Bendito G. Choreography of early thalamocortical development // *Cereb Cortex*. - 2003. – V. 13. – P. 661-669.
225. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors / H. Monyer, N. Burnashev, D.J. Laurie, B. Sakmann, P.H. Seeburg // *Neuron*. - 1994. – V. 12. – P. 529-540.
226. Thalamic relay of spontaneous retinal activity prior to vision / R. Mooney, A.A. Penn, R. Gallego, C.J. Shatz // *Neuron*. - 1996. – V. 17. – P. 863-874.
227. Moore C.I., Nelson S.B. Spatio-temporal subthreshold receptive fields in the vibrissa representation of rat primary somatosensory cortex // *J Neurophysiol*. – 1998. – V. 80. – P. 2882-2892.
228. Altered map of visual space in the superior colliculus of mice lacking early retinal waves / T.D. Mrsic-Flogel, S.B. Hofer, C. Creutzfeldt, I. Cloez-Tayarani, J.P. Changeux, T. Bonhoeffer, M. Hubener // *J Neurosci*. - 2005. – V. 25. – P. 6921-6928.
229. Mu Y., Poo M.M. Spike timing-dependent LTP/LTD mediates visual experience-dependent plasticity in a developing retinotectal system // *Neuron*. - 2006. – V. 50. – P. 115-125.
230. Muir-Robinson G., Hwang B.J., Feller M.B. Retinogeniculate axons undergo eye-specific segregation in the absence of eye-specific layers // *J Neurosci*. - 2002. – V. 22. – P. 5259-5264.

231. Naegele J.R., Jhaveri S., Schneider G.E. Sharpening of topographical projections and maturation of geniculocortical axon arbors in the hamster // *Journal of Comparative Neurology*. – 1988. – V. 277. – P. 593-607.
232. Neurotransmitter release at the thalamocortical synapse instructs barrel formation but not axon patterning in the somatosensory cortex / N. Narboux-Nême, A. Evrard, I. Ferezou, R.S. Erzurumlu, P.S. Kaeser, J. Lainé, J. Rossier, N. Ropert, T.C. Sudhof, P. Gaspar // *The Journal of neuroscience*. – 2012. – V. 32. – P. 6183-6196.
233. cAMP oscillations and retinal activity are permissive for ephrin signaling during the establishment of the retinotopic map / X. Nicol, S. Voyatzis, A. Muzerelle, N. Narboux-Neme, T.C. Sudhof, R. Miles, P. Gaspar // *Nat Neurosci*. - 2007. – V. 10. – P. 340-347.
234. Niedermeyer E. Maturation of the EEG: development of waking and sleep patterns // *Electroencephalography. Basic Principles, Clinical Applications and Related Fields*, 4th ed.(Niedermeyer E, Lopes da Silva F, eds). Williams & Wilkins, Baltimore, MD. – 1999.
235. Niedermeyer E. 9. The normal EEG of the waking adult // *Electroencephalography: Basic principles, clinical applications, and related fields*. – 2005. – P. 167.
236. Niedermeyer E., da Silva F.L. *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields* // Lippincott Williams & Wilkins. – 2005.
237. Bioelectric brain maturation in small-for-dates infants / R. Nolte, F.J. Schulte, R. Michaelis, U. Weisse, R. Gruson // *Dev Med Child Neurol*. - 1969. – V. 11. – P. 83-93.
238. EphA4 is necessary for spatially selective peripheral somatosensory topography / H.A. North, A. Karim, M.F. Jacquin, M.J. Donoghue // *Developmental Dynamics*. – 2010. – V. 239. – P. 630-638.
239. O'Donovan M.J. The origin of spontaneous activity in developing networks of the vertebrate nervous system // *Curr Opin Neurobiol*. - 1999. – V. 9. – P. 94-104.

240. Ohshiro T., Weliky M. Simple fall-off pattern of correlated neural activity in the developing lateral geniculate nucleus // *Nat Neurosci.* - 2006. – V. 9. – P. 1541-1548.
241. O'Leary D.D., Ruff N.L., Dyck R.H. Development, critical period plasticity, and adult reorganizations of mammalian somatosensory systems // *Curr Opin Neurobiol.* - 1994. – V. 4. – P. 535-544.
242. O'Leary D.D., Sahara S. Genetic regulation of arealization of the neocortex // *Current Opinion in Neurobiology.* – 2008. – V. 18. – P. 90-100.
243. O'Leary D.D., Schlaggar B.L., Tuttle R. Specification of neocortical areas and thalamocortical connections // *Annual review of neuroscience.* – 1994. – V. 17. – P. 419-439.
244. O'Leary D.D. Do cortical areas emerge from a protocortex? // *Trends in neurosciences.* – 1989. – V. 12. – P. 400-406.
245. O'Rahilly R.R., Müller F. The embryonic human brain: an atlas of developmental stages // *John Wiley & Sons.* – 2006.
246. Osterheld-Haas M.C., Hornung J.P. Laminar development of the mouse barrel cortex: effects of neurotoxins against monoamines // *Experimental brain research.* – 1996. – V. 110. – P. 183-195.
247. Owens D.F., Boyce L.H., Davis M.B., Kriegstein A.R. Excitatory GABA responses in embryonic and neonatal cortical slices demonstrated by gramicidin perforated-patch recordings and calcium imaging // *J Neurosci.* - 1996. – V. 16. – P. 6414-6423.
248. Pallas S.L. Intrinsic and extrinsic factors that shape neocortical specification // *Trends in neurosciences.* – 2001. – V. 24. – P. 417-423.
249. A periodic cerebral rhythm in newborn infants / A.H. Parmelee, Y. Akiyama, E. Stern, M.A. Harris // *Exp Neurol.* - 1969. – V. 25. – P. 575-584.
250. Patneau D.K., Mayer M.L. Structure-activity relationships for amino acid transmitter candidates acting at N-methyl-D-aspartate and quisqualate receptors // *J. Neurosci.* – 1990. – V. 10. – P. 2385-2399.

251. Patneau D.K., Mayer M.L. Structure-activity relationships for amino acid transmitter candidates acting at N-methyl-D-aspartate and quisqualate receptors // *J.Neurosci.* – 1990. – V. 10. – P. 2385-2399.
252. Competition in retinogeniculate patterning driven by spontaneous activity / A.A. Penn, P.A. Riquelme, M.B. Feller, C.J. Shatz // *Science.* - 1998. – V. 279. – P. 2108-2112.
253. Barrel pattern formation requires serotonin uptake by thalamocortical afferents, and not vesicular monoamine release / A.M. Persico, E. Mengual, R. Moessner, S.F. Hall, R.S. Revay, I. Sora, J. Arellano, J. DeFelipe, J.M. Gimenez-Amaya, M. Conciatori, R. Marino, A. Baldi, S. Cabib, T. Pascucci, G.R. Uhl, D.L. Murphy, K.P. Lesch, F.Keller // *J Neurosci.* - 2001. – V. 21. – P. 6862-6873.
254. Petersen C. The Functional Organization of the Barrel Cortex // *Neuron.* - 2007. – V. 56. –P. 339-355.
255. Petersen C.C.H., Sakmann B. Functionally independent columns of rat somatosensory barrel cortex revealed with voltage-sensitive dye imaging // *J Neurosci.* - 2001. – V. 21. – P. 8435-8446.
256. Spontaneous muscle twitches during sleep guide spinal self-organization / P. Petersson, A. Waldenstrom, C. Fahraeus, J. Schouenborg // *Nature.* - 2003. – V. 424. – P. 72-75.
257. Prechtl H.F. State of the art of a new functional assessment of the young nervous system. An early predictor of cerebral palsy // *Early Hum Dev.* - 1997. – V. 50. – P. 1-11.
258. The development of cortical connections / D.J. Price, H. Kennedy, C. Dehay, L. Zhou, M. Mercier, Y. Jossin, A.M. Goffinet, F. Tissir, D. Blakey, Z. Molnar // *European Journal of Neuroscience.* - 2006. – V. 23. – P. 910-920.
259. Prusky G.T., Douglas R.M. Developmental plasticity of mouse visual acuity // *European Journal of Neuroscience.* – 2003. – V. 17. – P. 167-173.
260. Rakic P. Prenatal genesis of connections subserving ocular dominance in the rhesus monkey // *Nature.* - 1976. – V. 261. – P. 467-471.

261. Decision by division: making cortical maps / P. Rakic, A.E. Ayoub, J.J. Breunig, M.H. Dominguez // *Trends Neurosci.* – 2009. – V. 32. – P. 291-301.
262. Rakic P., Komuro H. The role of receptor/channel activity in neuronal cell migration // *J Neurobiol.* - 1995. – V. 26. – P. 299-315.
263. Rebsam A, Seif I, Gaspar P. Refinement of thalamocortical arbors and emergence of barrel domains in the primary somatosensory cortex: a study of normal and monoamine oxidase a knock-out mice // *J.Neurosci.* – 2002. – V. 22. – P. 8541-8552.
264. Excitatory GABA in rodent developing neocortex in vitro / S. Rheims, M. Minlebaev, A. Ivanov, A. Represa, R. Khazipov, G.L. Holmes, Y. Ben Ari, Y. Zilberter // *Journal of Neurophysiology.* - 2008. – V. 100. – P. 609-619.
265. Effects of 5-HT on thalamocortical synaptic transmission in the developing rat / R.W. Rhoades, C.A. Bennett-Clarke, M.Y. Shi, R.D. Mooney // *Journal of neurophysiology.* – 1994. – V. 72. – P. 2438-2450.
266. Development and lesion induced reorganization of the cortical representation of the rat's body surface as revealed by immunocytochemistry for serotonin / R.W. Rhoades, C.A. nett-Clarke, N.L. Chiaia, F.A. White, G.J. Macdonald, J.H. Haring, M.F. Jacquin // *J.Comp Neurol.* – 1990. – V. 293. – P. 190-207.
267. A comparative analysis of the development of the primary somatosensory cortex: interspecies similarities during barrel and laminar development / F.L. Rice, C.Gomez, C. Barstow, A. Burnet, P. Sands // *J.Comp Neurol.* – 1985. – V. 236. – P. 477-495.
268. The K^+/Cl^- co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation / C. Rivera, J. Voipio, J.A. Payne, E. Ruusuvuori, H. Lahtinen, K. Lamsa, U. Pirvola, M. Saarma, K. Kaila // *Nature.* - 1999. – V.397. – P. 251-255.
269. Sparsification of neuronal activity in the visual cortex at eye-opening / N.L. Rochefort, O. Garaschuk, R.I. Milos, M. Narushima, N. Marandi, B. Pichler, Y. Kovalchuk, A. Konnerth // *Proc Natl Acad Sci U S A.* - 2009. – V. 106. – P. 15049-15054.

270. A map of visual space induced in primary auditory cortex / A.W. Roe, S.L. Pallas, J.O. Hahn, M. Sur // *Science*. – 1990. – V. 250. – P. 818-820.
271. Roy N.C., Bessaih T., Contreras D. Comprehensive mapping of whisker-evoked responses reveals broad, sharply tuned thalamocortical input to layer 4 of barrel cortex // *J.Neurophysiol.* – 2011. – V. 105. – P. 2421-2437.
272. Ruthazer E.S., Stryker M.P. The role of activity in the development of long-range horizontal connections in area 17 of the ferret // *J Neurosci.* - 1996. – V. 16. – P. 7253-7269.
273. Sampaio R.C., Truwit C.L. Myelination in the developing human brain // *Handbook of developmental cognitive neuroscience*. – 2001. – P. 35-44
274. Sanchez-Vives M.V., McCormick D.A. Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex // *Nat Neurosci.* - 2000. – V. 3. – P. 1027-1034.
275. Sanchez-Vives M.V., McCormick D.A. Cellular and network mechanisms of rhythmic recurrent activity in neocortex // *Nat Neurosci.* – 2000. – V. 3. – P. 1027-1034.
276. Scher MS. Electroencephalography of the Newborn: Normal Features. In: G.L.Holmes, S.Moshe, R.H. Jones, editors. *Clinical Neurophysiology of Infancy, Childhood and Adolescence* // Elsevier, USA. - 2006. – P. 46-69.
277. Schlaggar B.L., Fox K., O'Leary D.M. Postsynaptic control of plasticity in developing somatosensory cortex // *Nature*. - 1993. – V. 364. – P. 623-626.
278. Seelke A.M., Blumberg M.S. The microstructure of active and quiet sleep as cortical delta activity emerges in infant rats // *Sleep*. - 2008. – V. 31. – P. 691-699.
279. Seelke A.M., Blumberg M.S. Developmental appearance and disappearance of cortical events and oscillations in infant rats // *Brain Res.* - 2010. – V. 1324. – P. 34-42.
280. Sehara K, Kawasaki H. Neuronal circuits with whisker-related patterns // *Molecular neurobiology*. – 2011. – V. 43. – P. 155-162.
281. Senft S.L., Woolsey T.A. Growth of thalamic afferents into mouse barrel cortex // *Cereb.Cortex*. – 1991. – V. 1. – P. 308-335.

282. Shatz C.J., Stryker M.P. Prenatal tetrodotoxin infusion blocks segregation of retinogeniculate afferents // *Science*. - 1988. – V. 242. – P. 87-89.
283. Shimogori T., Grove E.A. Subcortical and neocortical guidance of area-specific thalamic innervation. In: Anonymous *Development and plasticity in sensory thalamus and cortex* // Springer. – 2006. – P. 42-53.
284. Shu Y., Hasenstaub A., McCormick D.A. Turning on and off recurrent balanced cortical activity // *Nature*. - 2003. – V. 423. – P. 288-293.
285. Simons D.J. Response properties of vibrissa units in rat SI somatosensory neocortex // *J. Neurophysiol.* – 1978. – V. 41. – P. 798-820.
286. Depolarizing GABA acts on intrinsically bursting pyramidal neurons to drive giant depolarizing potentials in the immature hippocampus / S.T. Sipila, K. Huttu, I. Soltes, J. Voipio, K. Kaila // *J Neurosci.* - 2005. – V. 25. – P. 5280-5289.
287. The Na-K-Cl cotransporter (NKCC1) Promotes Sharp Waves in the Neonatal Rat Hippocampus / S.T. Sipila, S. Schuchmann, J. Voipio, J. Yamada, K. Kaila // *J Physiol.* - 2006.
288. Smith S.L., Trachtenberg J.T. Experience-dependent binocular competition in the visual cortex begins at eye opening // *Nat Neurosci.* - 2007. – V. 10. – P. 370-375.
289. Stellwagen D., Shatz C.J. An instructive role for retinal waves in the development of retinogeniculate connectivity // *Neuron*. - 2002. – V. 33. – P. 357-367.
290. Steriade M. Impact of network activities on neuronal properties in corticothalamic systems // *Journal of neurophysiology*. – 2001. – V. 86. – P. 1-39.
291. Steriade M. Sleep and neuronal plasticity: Cellular mechanisms of corticothalamic oscillations // *Sleep: Circuits and functions*. – 2005. – P. 1-24.
292. Steriade M., McCormick D.A., Sejnowski T.J. Thalamocortical oscillations in the sleeping and aroused brain // *Science*. - 1993. – V. 262. – P. 679-685.
293. Stern E.A., Maravall M., Svoboda K. Rapid development and plasticity of layer 2/3 maps in rat barrel cortex in vivo // *Neuron*. - 2001. – V. 31. – P. 305-315.
294. Stockard-Pope J.E., Werner S.S., Bickford R.G. *Atlas of neonatal electroencephalography*, 2nd Ed. // Raven Press. - 1992.

295. Stryker M.P., Harris W.A. Binocular impulse blockade prevents the formation of ocular dominance columns in cat visual cortex // *J Neurosci.* - 1986. – V. 6. – P. 2117-2133.
296. Sun Q.Q., Huguenard J.R., Prince D.A. Barrel cortex microcircuits: thalamocortical feedforward inhibition in spiny stellate cells is mediated by a small number of fast-spiking interneurons // *J Neurosci.* - 2006. – V. 26. – P. 1219-1230.
297. Sur M., Pallas S.L., Roe A.W. Cross-modal plasticity in cortical development: differentiation and specification of sensory neocortex // *Trends in neurosciences.* – 1990. – V. 13. – P. 227-233/
298. Sur M., Rubenstein J.L. Patterning and plasticity of the cerebral cortex // *Science.* – 2005. – V. 310. – P. 805-810.
299. Tharp B.R. Electrophysiological brain maturation in premature infants: an historical perspective // *Journal of Clinical Neurophysiology.* – 1990. – V. 7. – P. 302-314.
300. Thomas C.G., Tian H., Diamond J.S. The relative roles of diffusion and uptake in clearing synaptically released glutamate change during early postnatal development // *J.Neurosci.* – 2011. – V. 31. – P. 4743-4754.
301. Tian N., Copenhagen D.R. Visual stimulation is required for refinement of ON and OFF pathways in postnatal retina // *Neuron.* - 2003. – V. 39. – P. 85-96.
302. Origin of slow cortical oscillations in deafferented cortical slabs / I. Timofeev, F. Grenier, M. Bazhenov, T.J. Sejnowski, M. Steriade // *Cereb Cortex.* – 2000. – V. 10. – P. 1185-1199.
303. Torborg C.L., Feller M.B. Spontaneous patterned retinal activity and the refinement of retinal projections // *Prog Neurobiol.* - 2005. – V. 76. – P. 213-235.
304. Torres F, Anderson C. The normal EEG of the human newborn // *Journal of Clinical Neurophysiology.* - 1985. – V. 2. – P. 89-104.
305. Tsai W.H., Koh S.W., Puro D.G. Epinephrine regulates cholinergic transmission mediated by rat retinal neurons in culture // *Neuroscience.* – 1987. – V. 22. – P. 675-680.

306. Turlejski K., Djavadian R.L., Kossut M. Neonatal serotonin depletion modifies development but not plasticity in rat barrel cortex // *Neuroreport*. – 1997. – V. 8. – P. 1823-1828.
307. Maternal Oxytocin Triggers a Transient Inhibitory Switch in GABA Signaling in the Fetal Brain During Delivery / R. Tyzio, R. Cossart, I. Khalilov, M. Minlebaev, C.A. Hubner, A. Represa, Y. Ben Ari, R. Khazipov // *Science*. - 2006. – V. 314. – P. 1788-1792.
308. Neural synchrony and the development of cortical networks / P.J. Uhlhaas, F. Roux, E. Rodriguez, A. Rotarska-Jagiela, W. Singer // *Trends Cogn Sci*. - 2010. – V. 14. – P. 72-80.
309. Temporal coding at the immature depolarizing GABAergic synapse / G. Valeeva, A. Abdullin, R. Tyzio, A. Skorinkin, E. Nikolski, Y. Ben-Ari, R. Khazipov // *Front Cell Neurosci*. - 2010. – V. 4.
310. Van der Loos H., Dörfl J., Welker E. Variation in pattern of mystacial vibrissae in mice A quantitative study of ICR stock and several inbred strains // *Journal of Heredity*. – 1984. – V. 75. – №. 5. – P. 327-336.
311. Van der Loos H., Woolsey T.A. Somatosensory cortex: structural alterations following early injury to sense organs // *Science*. - 1973. – V. 179. – P. 395-398.
312. Van Kleef E.S., Gaspar P., Bonnin A. Insights into the complex influence of 5GAPHT signaling on thalamocortical axonal system development // *European Journal of Neuroscience*. – 2012. – V. 35. – P. 1563-1572.
313. Vanhatalo S., Kaila K. Development of neonatal EEG activity: From phenomenology to physiology // *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. - 2006. – V. 11. – P. 471-478.
314. Slow endogenous activity transients and developmental expression of K⁺-Cl⁻ cotransporter 2 in the immature human cortex / S. Vanhatalo, J.M. Palva, S. Andersson, C. Rivera, J. Voipio, K. Kaila // *European Journal of Neuroscience*. - 2005. – V. 22. – P. 2799-2804.

315. DC-EEG discloses prominent, very slow activity patterns during sleep in preterm infants / S. Vanhatalo, P. Tallgren, S. Andersson, K. Sainio, J. Voipio, K. Kaila // *Clinical Neurophysiology*. - 2002. – V. 113. – P. 1822-1825.
316. Cellular and subcellular distribution of alpha 2A-adrenergic receptors in the visual cortex of neonatal and adult rats / C. Venkatesan, X.Z. Song, C.G. Go, H. Kurose, C. Aoki // *J Comp Neurol*. - 1996. – V. 365. – P. 79-95.
317. Postsynaptic depolarisation enhances transmitter release and causes the appearance of responses at "silent" synapses in rat hippocampus / L.L. Voronin, R.S. Altinbaev, I.T. Bayazitov, S. Gasparini, A.V. Kasyanov, C. Saviane, L. Savtchenko, E. Cherubini // *Neuroscience*. - 2004. – V. 126. – P. 45-59.
318. Waite P.M., Ho S.M., Henderson T.A. Afferent ingrowth and onset of activity in the rat trigeminal nucleus // *Eur.J.Neurosci*. – 2000. – V. 12. – P. 2781-2792.
319. The role of cortical activity in experience-dependent potentiation and depression of sensory responses in rat barrel cortex / H. Wallace, S. Glazewski, K. Liming, K. Fox // *J Neurosci*. – 2001. – V. 21. – P. 3881-3894.
320. Wang X.J. Neurophysiological and computational principles of cortical rhythms in cognition // *Physiol Rev*. - 2010. – V. 90. – P. 1195-1268.
321. Warland D.K., Huberman A.D., Chalupa L.M. Dynamics of spontaneous activity in the fetal macaque retina during development of retinogeniculate pathways // *J Neurosci*. - 2006. – V. 26. – P. 5190-5197.
322. Watanabe K., Iwase K. Spindle-like fast rhythms in the EEGs of low-birth weight infants // *Dev Med Child Neurol*. - 1972. – V. 14. – P. 373-381.
323. Involvement of protein kinase A in patterning of the mouse somatosensory cortex / R.F. Watson, R.M. Abdel-Majid, M.W. Barnett, B.S. Willis, A. Katsnelson, T.H. Gillingwater, G.S. McKnight, P.C. Kind, P.E. Neumann // *The Journal of neuroscience*. – 2006. – V. 26. – P. 5393-5401.
324. Altered sensory processing in the somatosensory cortex of the mouse mutant barrelless / E. Welker, M. Armstrong-James, G. Bronchti, W. Ourednik, F. Gheorghita-Baechler, R. Dubois, D.L. Guernsey, H. Van der Loos, P.E. Neumann // *Science*. – 1996. – V. 271. – P. 1864-1867.

325. Welker E., Van der Loos H. Quantitative correlation between barrel-field size and the sensory innervation of the whiskerpad: a comparative study in six strains of mice bred for different patterns of mystacial vibrissae // *The Journal of neuroscience*. – 1986. – V. 6. – P. 3355-3373.
326. Wells J.E., Porter J.T., Agmon A. GABAergic inhibition suppresses paroxysmal network activity in the neonatal rodent hippocampus and neocortex // *J Neurosci*. - 2000. – V. 20. – P. 8822-8830.
327. Wespatat V., Tennigkeit F., Singer W. Phase sensitivity of synaptic modifications in oscillating cells of rat visual cortex // *J Neurosci*. - 2004. – V. 24. – P. 9067-9075.
328. White L.E., Coppola D.M., Fitzpatrick D. The contribution of sensory experience to the maturation of orientation selectivity in ferret visual cortex // *Nature*. - 2001. – V. 411. – P. 1049-1052.
329. Wiesel T.N., Hubel D.H. Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye // *J Neurophysiol*. – 1963. – V. 26. – P. 1003-1017.
330. Wiesel T.N. The postnatal development of the visual cortex and the influence of environment // *Bioscience reports*. – 1982. - 2001. – V. 2. – P. 351-377.
331. Wong R.O., Meister M., Shatz C.J. Transient period of correlated bursting activity during development of the mammalian retina // *Neuron*. - 1993. – V. 11. – P. 923-938.
332. Woolsey T.A., Van der Loos H. The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units // *Brain Res*. - 1970. – V. 17. – P. 205-242.
333. Woolsey T.A., Wann J.R. Areal changes in mouse cortical barrels following vibrissal damage at different postnatal ages // *Journal of Comparative Neurology*. - 1976. – V. 170. – P. 53-66.
334. Wu C., Ballester Rosado C.J., Lu H. What can we get from barrels: the rodent barrel cortex as a model for studying the establishment of neural circuits // *European Journal of Neuroscience*. – 2011. – V. 34. – P. 1663-1676.

335. Cl⁻ uptake promoting depolarizing GABA actions in immature rat neocortical neurones is mediated by NKCC1 / J. Yamada, A. Okabe, H. Toyoda, W. Kilb, H.J. Luhmann, A. Fukuda // *The Journal of Physiology Online*. - 2004. – V. 557. – P. 829-841.
336. Three patterns of oscillatory activity differentially synchronize developing neocortical networks in vivo / J.W. Yang, I.L. Hanganu-Opatz, J.J. Sun, H.J. Luhmann // *J Neurosci*. - 2009. – V. 29. – P. 9011-9025.
337. Thalamic network oscillations synchronize ontogenetic columns in the newborn rat barrel cortex / J.W. Yang, S. An, J.J. Sun, V. Reyes-Puerta, J. Kindler, T. Berger, W. Kilb, H.J. Luhmann // *Cereb.Cortex*. – 2012. – P. 103.
338. Three patterns of oscillatory activity differentially synchronize developing neocortical networks in vivo / J.W. Yang, I.L. Hanganu-Opatz, J.J. Sun, H.J. Luhmann // *J.Neurosci*. – 2009. – V. 29. – P. 9011-9025.
339. Yuste R., Katz L.C. Control of postsynaptic Ca²⁺ influx in developing neocortex by excitatory and inhibitory neurotransmitters // *Neuron*. - 1991. – V. 6. – P. 333-344.
340. Zhang Z.W., Peterson M., Liu H. Essential role of postsynaptic NMDA receptors in developmental refinement of excitatory synapses // *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A*. – 2013. –V. 110. – P. 1095-1100.
341. Zhou Q., Poo M.M. Reversal and consolidation of activity-induced synaptic modifications // *Trends Neurosci*. – 2004. – V. 27. – P. 378-383.
342. Zhou Q., Tao H.W., Poo M.M. Reversal and stabilization of synaptic modifications in a developing visual system // *Science*. - 2003. – V. 300. – P. 1953-1957.