
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ВОЛН РАСПРОСТРАНЯЮЩЕЙСЯ
ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ ВО ВРЕМЯ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ
ЭПИЛЕПТИФОРМНОЙ АКТИВНОСТИ, ВЫЗВАННОЙ ФЛУРОТИЛОМ**

© 2025 г. Г. Ф. Закирова¹, К. А. Чернова¹, Д. Е. Винокурова¹,

Р. Н. Хазипов^{1,2,*}, А. В. Захаров^{1,3}

¹Казанский федеральный университет, Казань, Россия

²Aix-Marseille University, INMED, INSERM, Marseille, France

³Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

*E-mail: roustem.khazipov@inserm.fr

Поступила в редакцию 27.11.2024 г.

После доработки 26.12.2024 г.

Принята к публикации 26.12.2024 г.

Волны распространяющейся деполяризации (РД) часто ассоциируются с эпилептическими разрядами и могут лежать в основе постиктальной депрессии. Однако факторы, определяющие возникновение РД во время эпилептических разрядов, до конца не изучены. Мы исследовали влияние возраста животных на этот феномен с помощью многоканальной регистрации электрических сигналов на разных глубинах соматосенсорной коры крыс во время генерализованных эпилептических разрядов, спровоцированных ингаляцией флуротила. Было обнаружено, что у молодых 1–2-месячных крыс РД сопровождали эпилептическую активность почти в половине случаев. Однако у незрелых (до 3 недель) и взрослых (старше 3 месяцев) крыс РД наблюдались крайне редко. Во всех возрастах РД возникали в поверхностных слоях коры и распространялись сверху вниз в более глубокие слои. Однако глубина проникновения РД также зависела от возраста, причем у молодых животных РД распространялись глубже, чем у незрелых и взрослых животных. Таким образом, склонность к РД во время флуротилловых судорог имеет колоколообразный возрастной профиль с наибольшей частотой возникновения РД и более глубоким распространением РД у молодых животных. Наши результаты свидетельствуют о том, что возраст является важным фактором, определяющим возникновение РД и ее свойства во время эпилептических разрядов в коре головного мозга.

Ключевые слова: распространяющаяся деполяризация, возраст, эпилепсия, судороги, электроэнцефалография, локальные потенциалы

DOI: 10.31857/S0869813925030073, **EDN:** UGRQZB

ВВЕДЕНИЕ

Распространяющаяся деполяризация (РД) представляет собой волну коллективной деполяризации нейронов и глиальных клеток, которая медленно (со скоростью нескольких миллиметров в минуту) распространяется по серому веществу коры го-

лового мозга [1–5]. РД возникает при различных патологиях, включая мигрень, ишемическое и травматическое повреждение мозга и эпилепсию. Генерация РД связана с массивными токами ионов через мембраны нейронов и глии и повышением внеклеточной концентрации ионов калия. Считается, что во время РД нейроны практически полностью теряют свой мембранный потенциал и способность к генерации потенциалов действия из-за деполяризационного блока, что приводит к подавлению всех видов электрической активности, так называемой распространяющейся депрессии [6]. Вместе с тем волны РД могут значительно различаться по своему фенотипу, в частности по своей вертикальной организации. Например, наряду с полными РД, которые распространяются по всей глубине коры и сопровождаются полным подавлением активности во всей кортикальной колонке, существует также фенотип частичных РД, которые распространяются лишь по некоторым (чаще поверхностным, наиболее предрасположенным к РД) слоям коры и ограничиваются подавлением активности лишь в слоях, затронутых РД [7–9].

Интересно, что исторически РД была впервые обнаружена в виде волн распространяющейся депрессии электрической активности коры, которые сопровождают массивные медленноволновые сдвиги внеклеточного потенциала, в ходе исследований генерализации фокальных эпилептических разрядов, вызываемых электрической стимуляцией коры [6]. С тех пор было получено убедительное количество доказательств, указывающих на тесную связь между РД и эпилепсией как в экспериментах на лабораторных животных [9–12], так и у пациентов [13]. Доминирующая гипотеза предполагает, что РД, возникающие во время эпилептических разрядов, приводят к инактивации коры в результате деполяризационного блока нейронов. Это в свою очередь приводит к приостановке эпилептической активности, и РД, таким образом, может являться одним из механизмов постиктальной депрессии. Наряду с довольно типичным возникновением в конце эпилептических разрядов РД может также возникать и во время эпилептического разряда, что наиболее вероятно объяснимо частичной формой РД, которая вызывает подавление эпилептической активности лишь в поверхностных слоях коры [9], а также перед эпилептическими разрядами во время так называемых распространяющихся конвульсий [14, 15]. Важно отметить, что далеко не все эпилептические разряды сопровождаются РД, в связи с чем возникает вопрос, какие факторы определяют вероятность ее возникновения и ее свойства во время эпилептических разрядов. Поскольку возраст животного является одним из ключевых факторов, влияющих на предрасположенность коры к РД [16], в настоящей работе исследовалась встречаемость и свойства РД во время эпилептических разрядов, вызываемых в коре головного мозга крыс разного возраста ингаляцией флуротила, что является одной из распространенных моделей генерализованной эпилепсии [9, 17, 18].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Подготовка животных

В исследовании использовались крысы Wistar обоих полов в возрасте от 5 до 365 дней после рождения [P, postnatal day]. Подготовка животных к эксперименту проводилась под изофлурановой анестезией (4% для индукции, 2% для поддержания) с помощью устройства Fluotec4 (Surgivet/Anesco). Кожа над черепом и надкостница удалялись, затылочные мышцы отсекались от черепа для уменьшения двигательных артефактов. Для остановки кровотечения при иссечении кожи и мягких тканей использовался “Гемостаб” (раствор хлорида алюминия и сульфата оксикинолина), после чего поверхность черепа промывалась физраствором, просушивалась и покрывалась зубным цементом, за исключением области соматосенсорной коры

согласно стереотаксическому атласу мозга крыс [19]. По окончании операции животным вводился уретан (1.2–1.5 г/кг, внутривенно). По прошествии 1–2 ч после операции животное перемещалось в экспериментальную установку и располагалось на термостатируемой платформе (37°C, TC-344B; Warner Instruments), голова крысы крепилась к стереотаксической раме (Narishige, Япония). В черепе над соматосенсорной корой высверливалось отверстие размером ~ 0.5 мм для последующего введения в кору линейной матрицы электродов. Хлорсеребряный электрод (Ag/AgCl), помещенный в мозжечок, использовался в качестве объединенного земляного электрода и электрода сравнения.

Запись и анализ электрической активности

Запись внеклеточных электрических сигналов проводилась с помощью 16-канальной линейной матрицы иридиевых электродов (площадью 413 кв. мкм) на кремниевой подложке с расстоянием 100 мкм между соседними электродами (Neuronexus, США). Электроды вводили на глубину до 1.6–1.8 мм от поверхности коры перпендикулярно ее поверхности. Флуротил (Sigma) подавали через дыхательную маску в объеме 0.1 мл в течение 90 с либо однократно (22 крысы), либо дважды с интервалом 1.5 ч между ингаляциями (45 крыс). Электрические сигналы в полосе частот от 0 до 9 кГц регистрировали с помощью усилителя DigitalLynx (Neuralynx, Bozeman, MT, США) в режиме постоянного тока либо с частичным подавлением постоянной составляющей R-RC фильтром и с последующим восстановлением полночастотного сигнала, как описано ранее [20]. Сигналы оцифровывались с частотой 32 кГц и сохранялись на компьютере для последующего анализа с помощью программ ExpressAnalysis и Eview [21] в среде MATLAB (MathWorks, Natick, MA, США). Детекцию эпилептических популяционных спайков (ПС) и РД производили под визуальным контролем в программе Eview. Эпилептическими ПС считали кратковременные (до 100 мс) всплески потенциала, амплитуда которых в два и более раза превосходила среднюю амплитуду колебаний потенциала дельта-волнового диапазона в период до ингаляции флуортила. Временем судорожной активности считали период от первого до последнего ПС. Первичную детекцию РД также производили визуально по полночастотным сигналам. Время возникновения и окончания РД определяли по моменту пиковой крутизны фронта и времени окончания реполяризации соответственно [7]. Цифровую фильтрацию сигналов при частотах среза выше 2 Гц осуществляли с помощью цифрового фильтра Чебышева II типа (функция *cheby2*), а для фильтрования при частотах среза менее 2 Гц использовался цифровой RC-фильтр.

Статистический анализ данных

Статистический анализ данных проводился с использованием MATLAB Statistics. Оценку достоверности различия выборок проводили двусторонним тестом ранговых сумм Уилкоксона (функция *ranksum*). Степень различия вероятностей возникновения РД в возрастных группах оценивали тестом Фишера. Значимыми считали различия с уровнем вероятности $p < 0.05$. Объединенные данные представлены в виде медианы, 25-го и 75-го перцентилей. Групповой анализ проводился по следующим возрастным группам: 0–6, 7–20, 21–35, 36–55, 56–70, 71–370 постнатальных дней [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе исследовались возрастные изменения в вероятности возникновения и свойствах РД в соматосенсорной коре головного мозга крыс во время генерализованной эпилептиформной активности, вызываемой ингаляцией флуоро-

тила. На рис. 1a–f представлены типичные примеры регистрации эпилептической активности (в диапазоне 2–1000 Гц) и РД (в диапазоне 0.01–1000 Гц) в коре у крыс различных возрастов. У крыс в возрасте до 3 недель эпилептические разряды, как правило, не сопровождалась волнами РД (примеры Р6 и Р17 – рис. 1a, b), и в этой возрастной группе наиболее незрелых животных РД наблюдались лишь в 2 случаях из 33. У более взрослых животных (примеры Р31, Р48 и Р61 – рис. 1c–e) РД возникали намного чаще (примерно в половине экспериментов), причем в ряде случаев, как, например, у животного Р48, эпилептическая активность сопровождалась двумя волнами РД – первая РД возникала в начале эпилептического разряда, а вторая по его окончании. Парные РД наблюдались в 7 случаях из 62 между возрастными группами Р30 – Р64. Эпилептическая активность полностью подавлялась лишь в тех случаях, когда РД распространялась по всей глубине коры (красная кодировка РД). Если же РД ограничивалась лишь поверхностными слоями коры (желтая кодировка РД, см. ниже), эпилептическая активность сохранялась, поддерживаясь активными глубокими слоями, как было описано ранее [9]. У еще более взрослых животных (от Р90 до Р365, пример Р97 – рис. 1f) РД во время эпилептических разрядов не наблюдалась. Растер-графики временной организации эпилептиформной активности (синие отрезки) и РД (отрезки в красно-желтой гамме с кодировкой глубины распространения РД), зарегистрированные у всех животных в настоящем исследовании, представлены на рис. 1g. На рис. 2 дана групповая статистика возрастной зависимости вероятности возникновения РД во время эпилептических судорог с разделением животных по возрасту на возрастные группы Р: 0–6, 7–20, 21–35, 36–55, 56–70, 71–370 [22]. Как следует из этого анализа, вероятность возникновения РД была максимальной у молодых животных в промежуточных возрастных группах от Р21 до Р70, в то время как у более незрелых и у взрослых животных вероятность возникновения РД во время флуротил-индуцированной эпилептической активности была минимальной. Таким образом, возрастная зависимость вероятности возникновения РД во время эпилептических разрядов, вызванных флуротилом, имеет колоколообразную форму с наибольшей вероятностью РД у 1–2-месячных крыс и со значительно меньшей вероятностью РД у более молодых и более взрослых животных.

В предыдущих исследованиях было показано, что РД проявляет весьма разнообразные паттерны своего распространения по коре головного мозга как в горизонтальном, так и в вертикальном плане с характерной предрасположенностью РД к большей вероятности возникновения и большей скорости распространения РД в поверхностных слоях коры [7–9, 23–27]. Данная предрасположенность РД к поверхностным слоям коры была также характерна и для РД, возникающих во время эпилептической активности, вызванной флуротилом [9]. В связи с этим нами был проведен анализ вертикального распространения волн РД на основании многоканальной регистрации электрических сигналов по глубине в кортикальной колонке в зависимости от возраста животных. В соответствии с результатами предыдущих исследований РД зарождалась в поверхностных слоях коры и распространялась сверху вниз, в более глубокие слои, независимо от возраста животного (рис. 3). Наряду с полным распространением РД по всей глубине коры (примеры Р30 – рис. 3b и Р48 – рис. 3c), наблюдались также и случаи с частичными РД, которые останавливались на определенной глубине коры, не проникая в более глубокие слои (примеры Р12 – рис. 3a и Р64 – рис. 3d). При этом охват всех слоев в случае полных РД приводил к полному подавлению эпилептической активности во всей колонке, в то время как в случаях частичных РД эпилептическая активность сохранялась в глубоких слоях, располагающихся ниже глубины остановки РД (рис. 3), что вполне согласуется с полученными ранее данными [9]. Волны РД сопровождалась практически полным подавлением потенциалов действия в тех слоях коры, которые были охвачены РД (рис. 3, правые панели). В случае полных РД подавление потенциалов действия на-

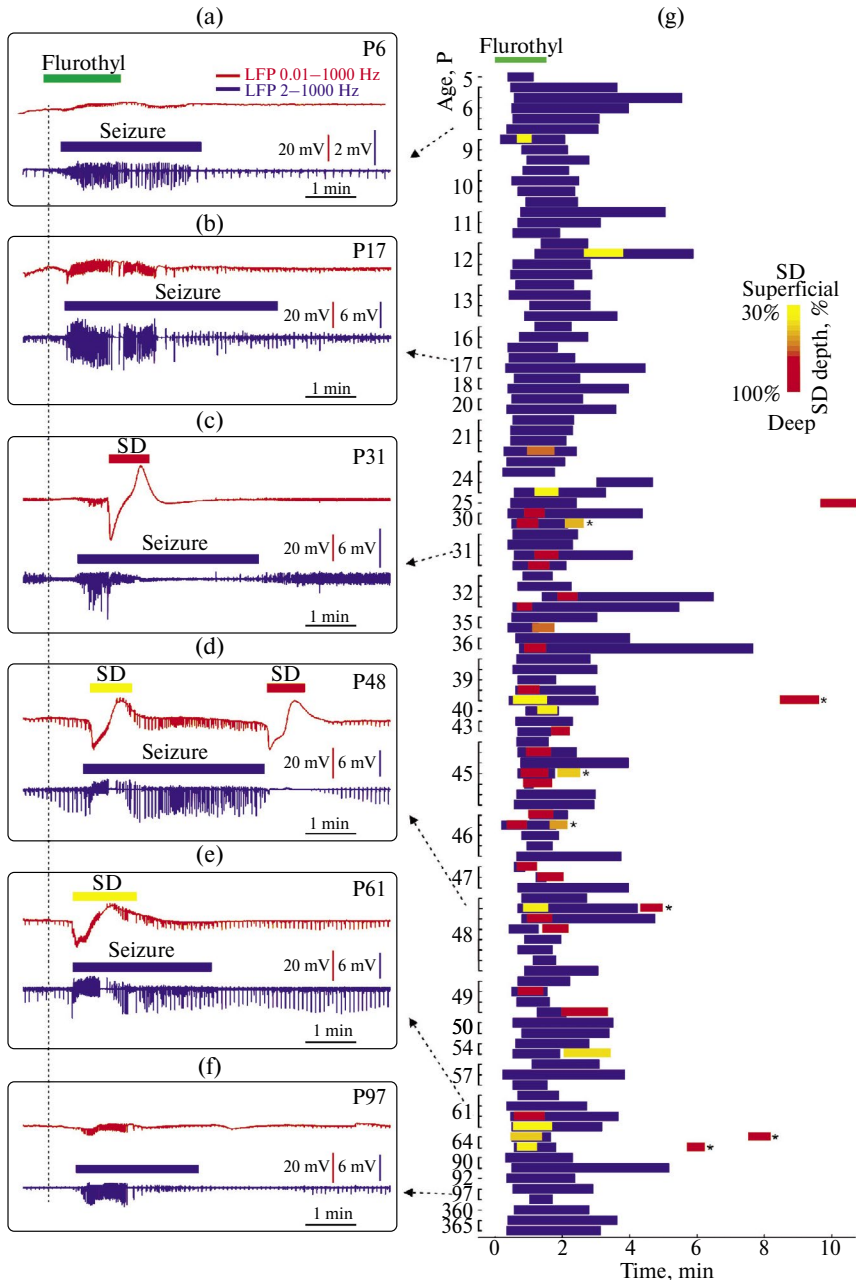


Рис. 1. РД во время флуоротил-индуцированной эпилептической активности у крыс различного возраста. (a–f) – Примеры регистрации внеклеточного потенциала в соматосенсорной коре на глубине 0.2–0.3 мм у крыс различного возраста (P) во время ингаляции флуоротила (зеленый горизонтальный отрезок). Синие линии – сигналы, отфильтрованные в диапазоне 2–1000 Гц; эпизоды судорожной активности обозначены синими горизонтальными отрезками. Красными линиями показаны сигналы в более широком частотном диапазоне (0.01–1000 Гц), позволяющем отобразить РД; отрезки в желто-красной цветовой гамме кодируют глубину распространения РД соответственно шкале на панели (g). (g) – Растер-график временной организации эпилептиформной активности (синие отрезки) и РД (отрезки в красно-желтой гамме с кодировкой глубины распространения РД), сортированные по возрасту крыс (P). Вторая волна РД отмечена символом “*”.

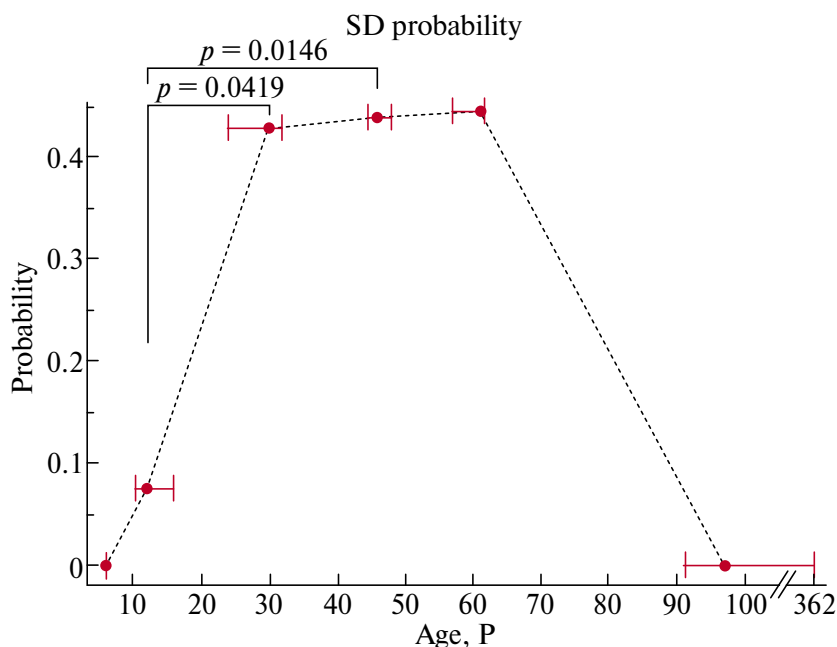


Рис. 2. Возрастная зависимость возникновения РД во время флуротил-индуцированной эпилептической активности. Животные разделены на следующие возрастные группы P: 0–6, 7–20, 21–35, 36–55, 56–70, 71–370 постнатальных дней [22]. Вероятность РД и соответствующее медианное значение возраста для каждой группы обозначено красным кружком. Горизонтальные отрезки указывают на 25-й и 75-й перцентили распределения возраста в каждой группе. Оценка достоверности различия вероятностей возникновения РД произведена точным тестом Фишера с уровнем значимости 0.05.

блюдалось по всей глубине кортикальной колонки (рис. 3b, c). В случае же частичных РД потенциалы действия подавлялись лишь в поверхностных слоях, в которые РД распространялась, в то время как в более глубоких слоях (ниже глубины остановки РД) потенциалы действия сохранялись (рис. 3a, d), что также согласуется с предыдущими исследованиями [9]. Анализ возрастной зависимости глубины распространения РД во время эпилептических разрядов, вызываемых флуротилом, выявил, что полный фенотип РД наиболее часто встречается у животных в возрастном диапазоне от P30 до P50, в то время как у более молодых и более взрослых животных все РД относились к частичному фенотипу (рис. 4). Соответственно, глубина остановки РД во время ее вертикального распространения была большей у крыс в возрастных группах P21–35 и P36–55 по сравнению с более молодыми и более взрослыми животными (рис. 4). Следует отметить, что отсутствие достоверности в сравнениях с молодой группой связано с малым количеством РД в этой группе ($n = 6$), а данные о глубине распространения РД у новорожденных и животных от 5 месяцев и старше отсутствуют, поскольку РД у них не наблюдались вовсе (рис. 1). В совокупности полученные результаты указывают на большую степень распространения РД по глубине кортикальной колонки у животных в возрастном диапазоне от одного до двух месяцев, что свидетельствует о большей предрасположенности коры к РД в этой возрастной группе и вполне согласуется с результатами анализа вероятности возникновения РД, представленными выше (рис. 2).

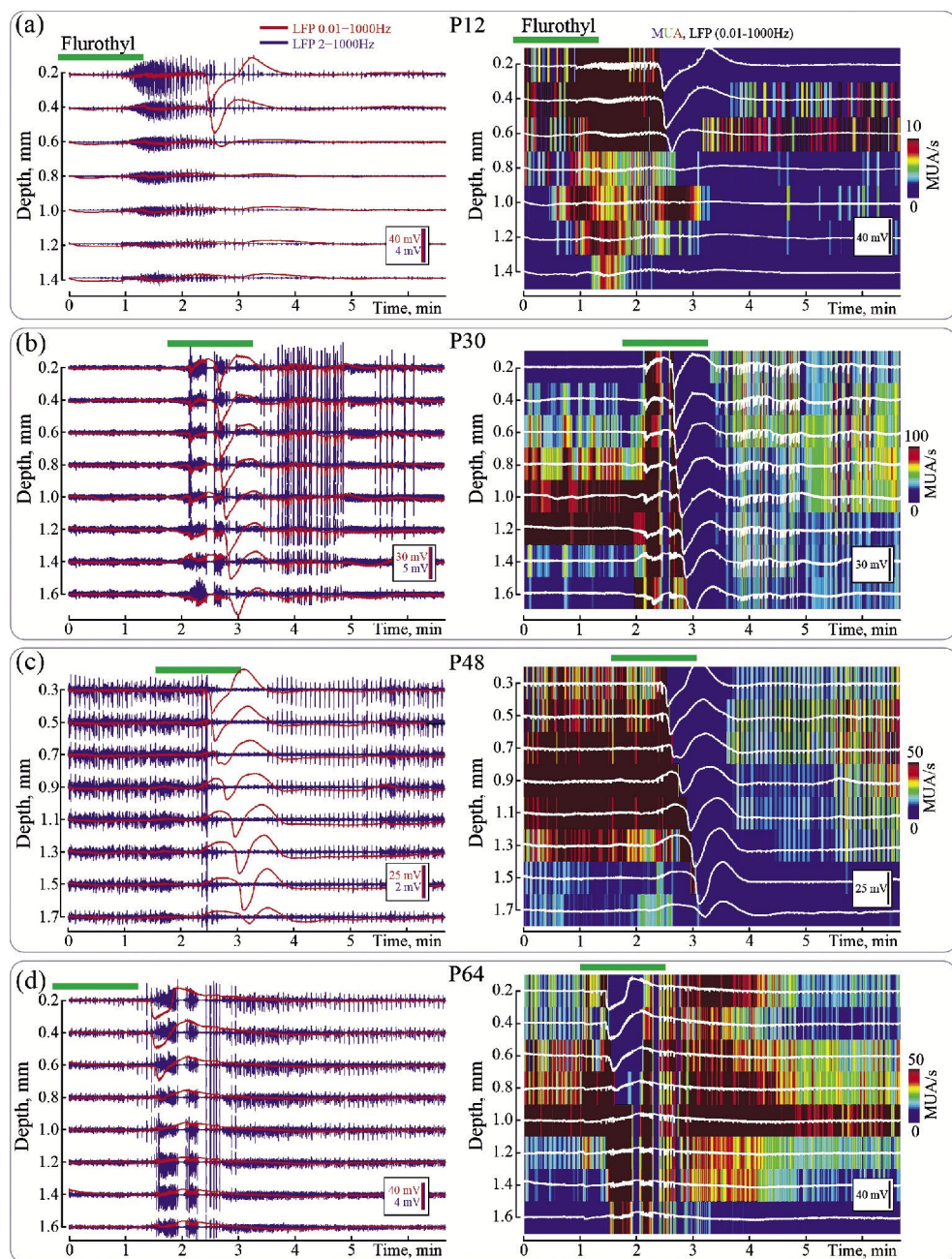


Рис. 3. Вертикальное распространение РД во время флуоротил-индуцированных эпилептических разрядов. (a-d) – Примеры судорожной активности и РД у крыс разного возраста, зарегистрированные на различной глубине коры. Период подачи флуоротила обозначен горизонтальными зелеными отрезками. Красными линиями показан полевой потенциал в диапазоне 0.01–1000 Гц для отображения РД и в диапазоне 2–1000 Гц для отображения эпилептической активности на различной глубине соматосенсорной коры. Справа на каждой панели показан полевой потенциал (белые линии) в диапазоне 0.01–1000 Гц на фоне цветовой карты частоты потенциалов действия нейронов (MUA).

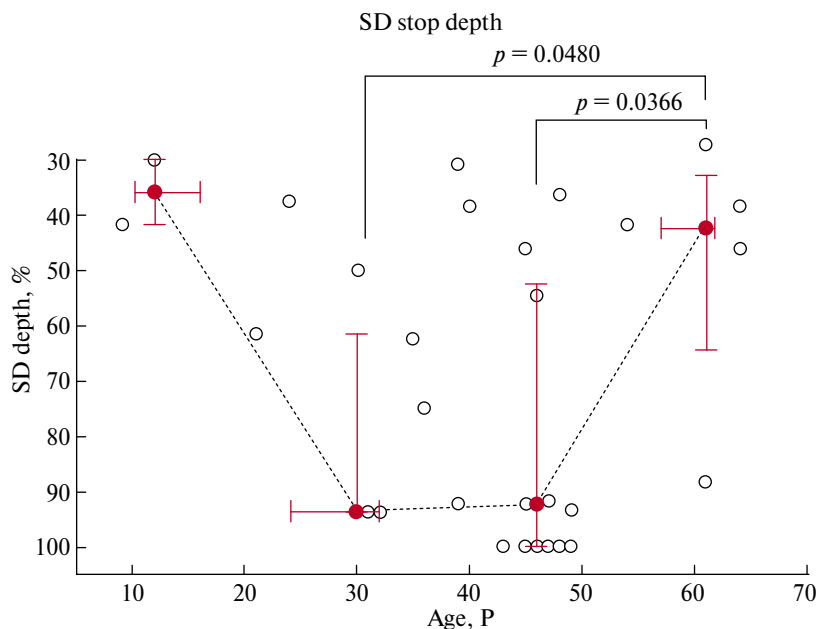


Рис. 4. Возрастная зависимость глубины проникновения РД во время флуротил-индуцированных эпилептических разрядов. Глубина проникновения РД от поверхности в глубину коры представлена в процентах от толщины коры. Учтены как единичные, так и множественные РД, возникающие в результате ингаляции флуротила. Черными кружками указаны значения для отдельных животных. Медианное значение глубины и соответствующее медианное значение возраста для каждой группы обозначено красными кружками. Горизонтальные отрезки указывают на 25-й и 75-й перцентили распределения возрастов в каждой возрастной группе. Вертикальные отрезки указывают на 25-й и 75-й перцентили распределения глубины проникновения РД в каждой группе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основным выводом настоящего исследования является то, что возраст животного является важным фактором, определяющим склонность к возникновению РД и ее вертикальному распространению в модели судорожной активности, вызываемой флуротилом. Так, нами было обнаружено, что максимальная вероятность возникновения РД наблюдается у молодых животных в возрасте от трех недель до двух месяцев, в то время как у более молодых и более старших животных РД встречалась значительно реже. Кроме того, в этой же возрастной группе с максимальной вероятностью возникновения РД распространялись на большую глубину, что также свидетельствует о склонности коры к РД в этом возрастном отрезке, который гипотетически можно обозначить как “критический период” наибольшей предрасположенности коры головного мозга к РД во время судорожной активности. Следует отметить, что схожий колоколообразный возрастной профиль РД характерен и для других моделей РД, в том числе вызванных аппликацией раствора с высокой концентрацией ионов калия, заменой внеклеточных ионов хлора на ацетат, электростимуляцией и в различных моделях ишемии и гипоксии [28–35]. Причины особой предрасположенности к РД во время “критического периода” до конца не изучены и скорее всего являются результатом сочетания множества возрастных факторов, включая количество и плотность глутаматергических синапсов, размер внеклеточного пространства, активность транспортеров ионов и медиаторов, свойств ионных каналов и метаболический статус нервной ткани [1, 16, 36]. Посколь-

ку РД значительно влияет на характер эпилептической активности [9–13, 37–44], полученные в настоящем исследовании данные о возрастных изменениях в вероятности возникновения РД и ее свойствах следует учитывать при исследованиях эпилепсии у животных и у пациентов.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Концепция (Р. Н. Х., А. В. З.), эксперименты и анализ (Г. Ф. З., К. А. Ч., Д. Е. В., А. В. З.), оригинальная версия статьи (Р. Н. Х., А. В. З.), окончательный вариант статьи (Г. Ф. З., К. А. Ч., Д. Е. В., Р. Н. Х., А. В. З.). Все авторы прочитали и согласились с окончательной версией рукописи.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Этическим комитетом Казанского федерального университета № 24 от 22.09.2020 г.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Настоящая работа была поддержана грантом РНФ № 22-15-00236.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы настоящей работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Somjen GG* (2001) Mechanisms of spreading depression and hypoxic spreading depression-like depolarization. *Physiol Rev* 81(3): 1065–1096.
<https://doi.org/10.1152/physrev.2001.81.3.1065>
2. *Pietrobon D, Moskowitz MA* (2014) Chaos and commotion in the wake of cortical spreading depression and spreading depolarizations. *Nat Rev Neurosci* 15(6): 379–393.
<https://doi.org/10.1038/nrn3770>
3. *Dreier JP, Reiffurth C* (2015) The stroke-migraine depolarization continuum. *Neuron* 86(4): 902–922.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.04.004>
4. *Ayata C, Lauritzen M* (2015) Spreading Depression, Spreading Depolarizations, and the Cerebral Vasculature. *Physiol Rev* 95(3): 953–993.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00027.2014>
5. *Hartings JA, Shuttleworth CW, Kirov SA, Ayata C, Hinzman JM, Foreman B* (2017) The continuum of spreading depolarizations in acute cortical lesion development: Examining Leao's legacy. *J Cereb Blood Flow Metab* 37(5): 1571–1594.
<https://doi.org/10.1177/0271678X16654495>
6. *Leao AAP* (1944) Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol* 7: 359–390.
<https://doi.org/10.1152/jn.1944.7.6.359>
7. *Nasretdinov A, Lotfullina N, Vinokurova D, Lebedeva J, Burkhanova G, Chernova K, Zakharov A, Khazipov R* (2017) Direct current coupled recordings of Cortical Spreading Depression using silicone probes. *Front Cell Neurosci* 11: 408.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2017.00408>
8. *Nasretdinov A, Vinokurova D, Lemale CL, Burkhanova-Zakirova G, Chernova K, Makarova J, Herreras O, Dreier JP, Khazipov R* (2023) Diversity of cortical activity changes beyond depression during Spreading Depolarizations. *Nat Commun* 14(1): 7729.
<https://doi.org/10.1038/s41467-023-43509-3>
9. *Zakharov A, Chernova K, Burkhanova G, Holmes GL, Khazipov R* (2019) Segregation of seizures and spreading depolarization across cortical layers. *Epilepsia* 60(12): 2386–2397.
<https://doi.org/10.1111/epi.16390>

10. *Bragin A, Penttonen M, Buzsaki G* (1997) Termination of epileptic after discharge in the hippocampus. *J Neurosci* 17(7): 2567–2579.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-07-02567.1997>
11. *Calia AB, Masvidal-Codina E, Smith TM, Schäfer N, Rathore D, Rodriguez-Lucas E* (2022) Full-bandwidth electrophysiology of seizures and epileptiform activity enabled by flexible graphene microtransistor depth neural probes. *Nat Nanotechnol* 17(3): 301–309.
<https://doi.org/10.1038/s41565-021-01041-9>
12. *Tamim I, Chung DY, de Moraes AL, Loonen ICM, Qin T, Misra A, Schlunk F, Endres M, Schiff SJ, Ayata C* (2021) Spreading depression as an innate antiseizure mechanism. *Nat Commun* 12(1): 2206.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-22464-x>
13. *Bastany ZJR, Askari S, Dumont GA, Kellinghaus C, Kazemi A, Gorji A* (2020) Association of cortical spreading depression and seizures in patients with medically intractable epilepsy. *Clin Neurophysiol* 131(12): 2861–2874.
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2020.09.016>
14. *Van Harreveld A, Stamm JS* (1953) Spreading cortical convulsions and depressions. *J Neurophysiol* 16(4): 352–366.
<https://doi.org/10.1152/jn.1953.16.4.352>
15. *Dreier JP, Major S, Pannek HW, Woitzik J, Scheel M, Wiesenthal D* (2012) Spreading convulsions, spreading depolarization and epileptogenesis in human cerebral cortex. *Brain* 135(Pt 1): 259–275.
<https://doi.org/10.1093/brain/awr303>
16. *Hertelendy P, Varga DP, Menyhart A, Bari F, Farkas E* (2019) Susceptibility of the cerebral cortex to spreading depolarization in neurological disease states: The impact of aging. *Neurochem Int* 127: 125–136.
<https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.10.010>
17. *Isaeva E, Isaev D, Savrasova A, Khazipov R, Holmes GL* (2010) Recurrent neonatal seizures result in long-term increases in neuronal network excitability in the rat neocortex. *Eur J Neurosci* 31(8): 1446–1455.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07179.x>
18. *Liu Z, Gatt A, Werner SJ, Mikati MA, Holmes GL* (1994) Long-term behavioral deficits following pilocarpine seizures in immature rats. *Epilepsy Res* 19(3): 191–204.
[https://doi.org/10.1016/0920-1211\(94\)90062-0](https://doi.org/10.1016/0920-1211(94)90062-0)
19. *Khazipov R, Zaynutdinova D, Ogievetsky E, Valeeva G, Mitrukina O, Manent JB* (2015) Atlas of the Postnatal Rat Brain in Stereotaxic Coordinates. *Front Neuroanat* 9: 161.
<https://doi.org/10.3389/fnana.2015.00161>
20. *Nasretidinov A, Evstifeev A, Vinokurova D, Burkhanova-Zakirova G, Chernova K, Churina Z, Khazipov R* (2021) Full-Band EEG Recordings Using Hybrid AC/DC-Divider Filters. *eNeuro* 8(4): ENEURO.0246-21.2021.
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0246-21.2021>
21. *Захаров АВ, Захарова ЮП* (2023) Eview – программа с открытым исходным кодом для преобразования и визуализации многоканальных электрофизиологических сигналов. *Гены и клетки* 18(4): 323–330. [*Zakharov AV, Zakharova JP* (2023) Eview – an open-source program for conversion and visualisation of multichannel electrophysiological signals. *Genes and Cells* 18(4): 323–330. (In Russ)].
22. *Ghasemi A, Jeddi S, Kashfi K* (2021) The laboratory rat: Age and body weight matter. *EXCLI J* 20: 1431–1445.
<https://doi.org/10.17179/excli2021-4072>
23. *Leao AA* (1951) The slow voltage variation of cortical spreading depression of activity. *Electroencephal Clin Neurophysiol* 3(3): 315–321.
[https://doi.org/10.1016/0013-4694\(51\)90079-x](https://doi.org/10.1016/0013-4694(51)90079-x)
24. *Munoz-Martinez EJ* (1970) Facilitation of cortical cell activity during spreading depression. *J Neurobiol* 2(1): 47–60.
<https://doi.org/10.1002/neu.480020105>
25. *Richter F, Lehmenkuhler A* (1993) Spreading depression can be restricted to distinct depths of the rat cerebral cortex. *Neurosci Lett* 152(1-2): 65–68.
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(93\)90484-3](https://doi.org/10.1016/0304-3940(93)90484-3)
26. *Kaufmann D, Theriot JJ, Zyuzin J, Service CA, Chang JC, Tang YT, Bogdanov VB, Multon S, Ju VS, Brennan KC* (2017) Heterogeneous incidence and propagation of spreading depolarizations. *J Cereb Blood Flow Metab* 37(5): 1748–1762.
<https://doi.org/10.1177/0271678X16659496>
27. *Vinokurova D, Zakharov A, Chernova K, Burkhanova-Zakirova G, Horst V, Lemale CL, Dreier JP, Khazipov R* (2022) Depth-profile of impairments in endothelin-1 – induced focal cortical ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 42(10): 1944–1960.
<https://doi.org/10.1177/0271678X221107422>

28. Bures J (1957) The ontogenetic development of steady potential differences in the cerebral cortex in animals. *Electroencephal Clin Neurophysiol* 9(1): 121–130.
[https://doi.org/10.1016/0013-4694\(57\)90116-5](https://doi.org/10.1016/0013-4694(57)90116-5)
29. Richter F, Lehmenkuhler A, Fechner R, Manveljan L, Haschke W (1998) Postnatal conditioning for spreading cortical depression in the rat brain. *Brain Res Dev Brain Res* 106(1-2): 217–221.
[https://doi.org/10.1016/s0165-3806\(98\)00018-2](https://doi.org/10.1016/s0165-3806(98)00018-2)
30. Schade JP (1959) Maturational aspects of EEG and of spreading depression in rabbit. *J Neurophysiol* 22(3): 245–257.
<https://doi.org/10.1152/jn.1959.22.3.245>
31. Gainutdinov A, Juzekaeva E, Mukhtarov M, Khazipov R (2023) Anoxic spreading depolarization in the neonatal rat cortex in vitro. *Front Cell Neurosci* 17: 1106268.
<https://doi.org/10.3389/fncel.2023.1106268>
32. Maslarova A, Alam M, Reiffurth C, Lapilover E, Gorji A, Dreier JP (2011) Chronically epileptic human and rat neocortex display a similar resistance against spreading depolarization in vitro. *Stroke* 42(10): 2917–2922.
<https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.621581>
33. Menyhart A, Zolei-Szenasi D, Puskas T, Makra P, Orsolya MT, Szepes BE, Toth R, Ivankovits-Kiss O, Obrenovitch TP, Bari F, Farkas E (2017) Spreading depolarization remarkably exacerbates ischemia-induced tissue acidosis in the young and aged rat brain. *Sci Rep* 7(1): 1154.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-01284-4>
34. Hansen AJ (1977) Extracellular potassium concentration in juvenile and adult rat brain cortex during anoxia. *Acta Physiol Scand* 99(4): 412–420.
<https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1977.tb10394.x>
35. Dzhalal V, Khalilov I, Ben Ari Y, Khazipov R (2001) Neuronal mechanisms of the anoxia-induced network oscillations in the rat hippocampus in vitro. *J Physiol* 536 (Pt 2): 521–531.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2001.0521c.xd>
36. Ayata C (2013) Pearls and pitfalls in experimental models of spreading depression. *Cephalalgia* 33(8): 604–613.
<https://doi.org/10.1177/0333102412470216>
37. Mody I, Lambert JDC, Heinemann U (1987) Low extracellular magnesium induces epileptiform activity and spreading depression in rat hippocampal slices. *J Neurophysiol* 57: 869–888.
<https://doi.org/10.1152/jn.1987.57.3.869>
38. Wadman WJ, Juta AJ, Kamphuis W, Somjen GG (1992) Current source density of sustained potential shifts associated with electrographic seizures and with spreading depression in rat hippocampus. *Brain Res* 570(1-2): 85–91.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)90567-s](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)90567-s)
39. Herreras O, Somjen GG (1993) Analysis of potential shifts associated with recurrent spreading depression and prolonged unstable spreading depression induced by microdialysis of elevated K⁺ in hippocampus of anesthetized rats. *Brain Res* 610(2): 283–294.
[https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)91412-1](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)91412-1)
40. Herreras O, Largo C, Ibarz JM, Somjen GG, Martin del Rio R (1994) Role of neuronal synchronizing mechanisms in the propagation of spreading depression in the in vivo hippocampus. *J Neurosci* 14(11 Pt 2): 7087–7798.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.14-11-07087.1994>
41. Makarova J, Gomez-Galan M, Herreras O (2008) Variations in tissue resistivity and in the extension of activated neuron domains shape the voltage signal during spreading depression in the CA1 in vivo. *Eur J Neurosci* 27(2): 444–456.
<https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06022.x>
42. Koroleva VI, Bures J (1983) Cortical penicillin focus as a generator of repetitive spike-triggered waves of spreading depression in rats. *Exp Brain Res* 51(2): 291–297.
<https://doi.org/10.1007/BF00237205>
43. Samotaeva IS, Tillmanns N, van Luijckelaar G, Vinogradova LV (2013) Intracortical microinjections may cause spreading depression and suppress absence seizures. *Neuroscience* 230: 50–55.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.11.013>
44. Rathmann T, Ghadiri MK, Stummer W, Gorji A (2020) Spreading Depolarization Facilitates the Transition of Neuronal Burst Firing from Interictal to Ictal State. *Neuroscience* 441: 176–183.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.05.029>

Age-Related Changes in Spreading Depolarization During Generalized Epileptiform Activity Induced by Flurothyl

G. F. Zakirova^a, K. A. Chernova^a, D. E. Vinokurova^a, R. N. Khazipov^{a, b, *},
and A. V. Zakharov^{a, c}

^aKazan Federal University, Kazan, Russia

^bAix-Marseille University, INMED, INSERM, Marseille, France

^cDepartment of Normal Physiology, Kazan State Medical University, Kazan, Russia

*e-mail: roustem.khazipov@inserm.fr

Spreading depolarizations (SDs) often accompany epileptiform discharges and participate in their termination. However, the factors that determine the occurrence of SD during epileptic seizures remain poorly understood. In this study, we investigated the influence of age on this phenomenon by performing multichannel intracortical recordings of electrical signals at different depths of the somatosensory cortex in rats during generalized epileptic discharges induced by flurothyl inhalation. We found that in juvenile rats (1–2 months old), SD frequently accompanied flurothyl-induced seizures, occurring in almost half of the cases. In contrast, SD events were much less frequent in immature rats (less than 3 weeks old) and adult rats (older than 3 months). In all age groups, SD originated in the superficial cortical layers and propagated downward into deeper layers. However, the depth of SD penetration was also age dependent: SDs spread deeper in juvenile rats compared to immature and adult animals. Thus, the propensity for SD during flurothyl-induced seizures follows a bell-shaped age profile, with the highest frequency and deepest propagation observed in juvenile animals. These findings underscore age as a critical determinant of the occurrence and characteristics of SD during epileptiform activity in the cortex.

Keywords: spreading depolarization, epilepsy, age, development, electroencephalography, local field potentials