

О.О.Григоров, А.О.Москалюк, С.А.Федулова, М.С.Веселовський

Потенціалкеровані калієві канали гальмівних інтернейронів культури гіпокампа

На тормозных интернейронах культуры клеток гиппокампа крысы изучены калиевые каналы, активирующиеся в ответ на деполяризацию плазматической мембраны. Суммарный выходящий калиевый ток исследуемых клеток имел порог активации приблизительно -50 мВ и проявлял низкую чувствительность к α -дендротоксину, что исключает участие в его формировании каналов семейства Kv1. Неинактивирующийся компонент составлял $83\% \pm 1,7\%$ от амплитуды суммарного тока. Постоянная времени спада тока с медленной инактивацией равнялась $3 \text{ с} \pm 0,15 \text{ с}$, что является характерным для каналов задержанного выпрямления подтипов Kv2, Kv3.1 и Kv3.2. Быстроинактивирующийся А-ток составлял $9,4\% \pm 1,3\%$ от общей амплитуды выходящего тока и был нечувствителен к 4-аминопиридину, что говорит о наличии на нейронах каналов семейства Kv4. При длительной деполяризации на всех нейронах наблюдался неинактивирующийся калиевый ток с порогом активации -60 мВ и амплитудой при потенциале -20 мВ $100\text{--}400$ пА, который не проявлял чувствительности к низким концентрациям 4-аминопиридина. Ретигабин вызывал обратимый сдвиг его вольт-амперной характеристики в сторону более отрицательных потенциалов и увеличивал амплитуду тока при -20 мВ на $66\% \pm 14\%$, что говорит о наличии на нейронах каналов семейства KCNQ. Однако селективные блокаторы каналов KCNQ линопирдин и XE991 не оказывали достоверного влияния на неинактивирующийся выходящий ток. Таким образом, по результатам наших исследований в формировании потенциалактивируемого калиевого тока на тормозных интернейронах культуры гиппокампа в небольшой степени принимают участие каналы подтипов Kv2, Kv3.1 и/или семейств Kv3.2, Kv4 и KCNQ. Большая же часть выходящего тока не имеет временной инактивации и обусловлена работой либо блокаторнечувствительных форм каналов KCNQ, либо каналов какого-то другого, пока малоизвестного семейства

ВСТУП

Потенціалкеровані калієві канали беруть участь у регуляції збудливості живих клітин, у формуванні потенціалу спокою і потенціалів дії, скороченні м'язів, у регуляції збудження і гальмування в нервовій системі, передачі сигналів по нервових волокнах. Без них неможлива діяльність жодної ділянки нервової системи [8]. Вони мають велику кількість підтипів, що зумовлює формування каналів з дуже різними біофізичними та фармакологічними властивостями. Калієвий канал – це трансмембранний протеїн, що складається з 4 α -субодиниць.

Нині відомо 11 родин калієвих каналів, що активуються при деполяризації клітинної мембрани (Kv1–Kv11), які об'єднують близько 30 підтипів α -субодиниць, здатних утворювати гомо- чи гетеротетрамери [4]. Оскільки специфічний набір потенціалкерованих каналів зумовлює особливості фізіологічної діяльності нейрона, то очевидно, що питання їх розподілу в нервовій системі є одним з найбільш актуальних у нейрофізіології.

Гіпокамп – це, по-перше, одна з ключових ланок у механізмі формування емоцій і короткочасної пам'яті та забезпечення ритмічної активності кори, а з іншого –

© О.О.Григоров, А.О.Москалюк, С.А.Федулова, М.С.Веселовський

зручний модельний об'єкт для вивчення нейрональних взаємовідносин і роботи живих нейронних мереж [2, 6]. З'ясування специфіки розподілу калієвих каналів на його збуджувальних і гальмівних нейронах може пояснити як принципи організації та роботи нервових структур взагалі, так і особливості будови та функціонування гіпокампа зокрема, що, в свою чергу, дозволить з'ясувати причини, які лежать в основі порушення його діяльності. Фактичний матеріал, накопичений з цього питання, можна розбити на дві групи: електрофізіологічні дослідження калієвих струмів на нейронах гіпокампа та молекулярно-біологічні чи гістологічні дослідження калієвих каналів на цих нейронах. Відповідність між інтегральними калієвими струмами, зареєстрованими на нейронах, і наявністю певних типів каналів на мембрані цих клітин вивчали досить мало.

Що стосується інтернейронів, то існують дані про наявність на їх мембранах каналів родини Kv3, необхідних для генерації потенціалів дії з високою частотою [14]. Є відомості про наявність на них струму зі швидкою інактивацією (А-струму), що, на відміну від А-струму в пірамідальних нейронів, має відносно невелику амплітуду [3]. Але взагалі, якщо порівнювати з пірамідальними нейронами, картина калієвих струмів, властивих гальмівним інтернейронам гіпокампа, нині виглядає значно менш чіткою. Як приклад можна згадати декілька робіт, присвячених виявленню на пірамідальних клітинах М-струму та відповідальних за нього каналів родини KCNQ (Kv7) [18, 20], при повній відсутності електрофізіологічних досліджень цього питання на інтернейронах. Таким чином, незважаючи на наявність окремих даних, загальної системи знань про притаманні гальмівним інтернейронам гіпокампа калієві струми і відповідні набори потенціалкерваних калієвих каналів досі не існує. В нашій роботі ми зробили спробу внести деяку ясність у це питання.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на нейронах первинної 3–4-тижневої культури всього гіпокампа щурів лінії Вістар. Культивування нейронів здійснювали за методом, описаним раніше [5]. Метод фіксації потенціалу в конфігурації “ціла клітина” використовували для реєстрації трансмембранних потенціалзалежних калієвих струмів. Досліджувані нейрони знаходились у стандартному зовнішньоклітинному розчині наступного складу (ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 3, CaCl₂ – 2, MgCl₂ – 2, глюкоза – 30, HEPES – 20, рН доводили до 7,4 додаванням NaOH. У зовнішньоклітинний розчин додавали по 20 мкмоль/л DNQX і DL-AP5 для блокади глутаматної передачі і 0,1 ммоль/л CdCl₂ для блокади кальцієвих каналів. У перфузуючий розчин при необхідності інгібування потенціалкерваних натрієвих каналів додавали тетродотоксин у концентрації 1 мкмоль/л. Усі перераховані речовини були виробництва фірми “Sigma” (США). Для селективного пригнічення калієвих каналів використовували блокатори α-дендротоксин, 4-амінопіридин (“Sigma”, США), лінопірдин, ХЕ991 (“Tocris”, Великобританія) та активатор калієвих каналів KCNQ ретигабін (“DuPont”, Франція). Аплікацію речовин і заміну розчинів проводили за допомогою метода швидкої локальної суперфузії [22]. Скляні patch-мікропіпетки мали опір 4–6 МОм і заповнювались внутрішньоклітинним розчином (ммоль/л): К-глюконат – 100, KCl – 50, EGTA – 10, MgCl₂ – 5, HEPES – 20, рН доводили до 7,4 додаванням КОН. Усі речовини виробництва фірми “Sigma”, США. Ємність піпеток компенсували перед реєстрацією струмів, ємнісні артефакти клітин і струми витоку віднімали при обробці результатів. Реєстрацію результатів проводили за допомогою посилювача Axopatch 200B і пакета програм pCLAMP6 (“Axon Instruments”, США). Подальшу обробку й аналіз результатів здійснювали

за допомогою пакета програм pCLAMP9 (“Axon Instruments”, США) і Exel2000 (“Microsoft”, США). Результати представлені як середнє \pm похибка середнього.

Вивчали мультиполярні клітини різної форми розміром 15–35 мкм. Нейрони трикутної форми та всі клітини з трьома відростками виключали у зв’язку з можливим відношенням їх до пірамідальних нейронів [7, 16]. Оскільки морфологічний критерій вважається недостатнім для ідентифікації типу клітин в умовах культури, то їх належність до гальмівних інтернейронів додатково перевіряли за електрофізіологічними властивостями. Так, відомо, що в гіпокампі у відповідь на тривалу деполяризацію пірамідальні клітини генерують потенціали дії короткими серіями (bursting) чи з невисокою частотою (15–30 Гц), (regular spiking), у той час як гальмівні інтернейрони поділяються на дві групи, що генерують потенціали дії з невисокою (regular spiking) чи з високою частотою (50–70 Гц), (fast spiking) [9, 11]. Крім того, в умовах культури низької щільності нейрони часто утворюють так звані ауапси (autapse) – синаптичні закінчення на сомі клітини, що йдуть від відгалужень її ж аксону. При цьому у разі достатньої для виникнення потенціалів дії в аксоні стимуляції такого нейрона спостерігається постсинаптичний струм на його мембрані (рис. 1,в). Таким

чином, якщо досліджувана клітина генерувала потенціали дії з високою частотою, чи якщо на ній спостерігався постсинаптичний струм від ауапса в умовах заблокованої збуджувальної передачі, ми могли впевнено говорити про її належність до гальмівних інтернейронів.

РЕЗУЛЬТАТИ

Калієві струми, що виникали у відповідь на деполяризацію клітинної мембрани, досліджені на 21 інтернейроні, що генерував потенціали дії з високою частотою та 22 інтернейронах, що відповідали на деполяризувальний імпульс струму серією потенціалів дії з невисокою частотою. Нейрони першої групи були здатні генерувати 20–35 потенціали дії протягом 500 мс стимуляції з напівшириною поодинокого потенціалу дії 0,7–1,2 мс. Клітини другої групи генерували протягом стимуляції 8–18 потенціалів дії з напівшириною поодинокого потенціалу дії 1,35–1,8 мс (див. рис. 1,а,б).

Для активації сумарного калієвого струму використовували стандартну схему стимуляції, при якій після попередньої гіперполяризації до -110 мВ на клітину подавалися деполяризувальні поштовхи з інкрементом 10 мВ від -40 до $+60$ мВ (рис. 2,а). На всіх досліджуваних нейронах така стимуляція викликала появу вихідного

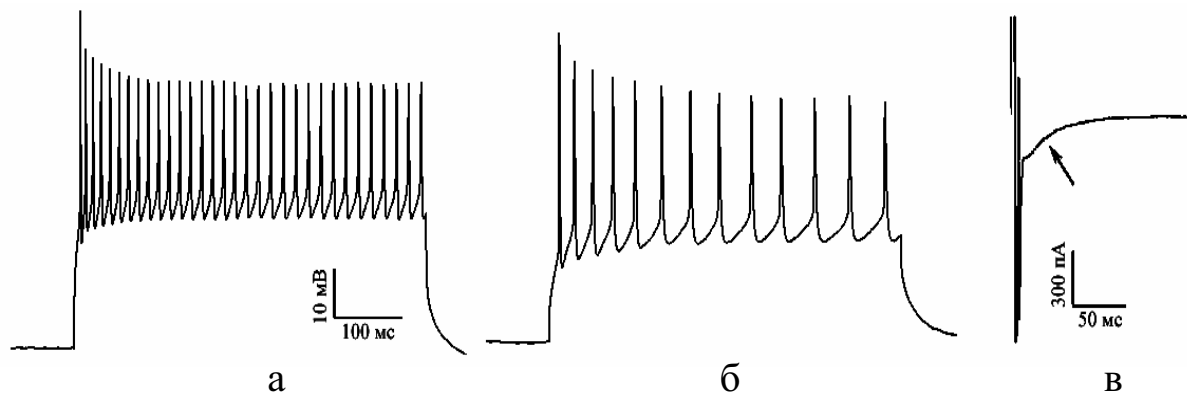


Рис.1. Серії потенціалів дії, що генеруються інтернейронами у відповідь на стимуляцію деполяризувальним струмом з високою (а) та невисокою (б) частотою і приклад постсинаптичного струму на мембрані нейрона (в, вказаний стрілкою) у відповідь на короткотривале деполяризувальне зміщення його мембранного потенціалу

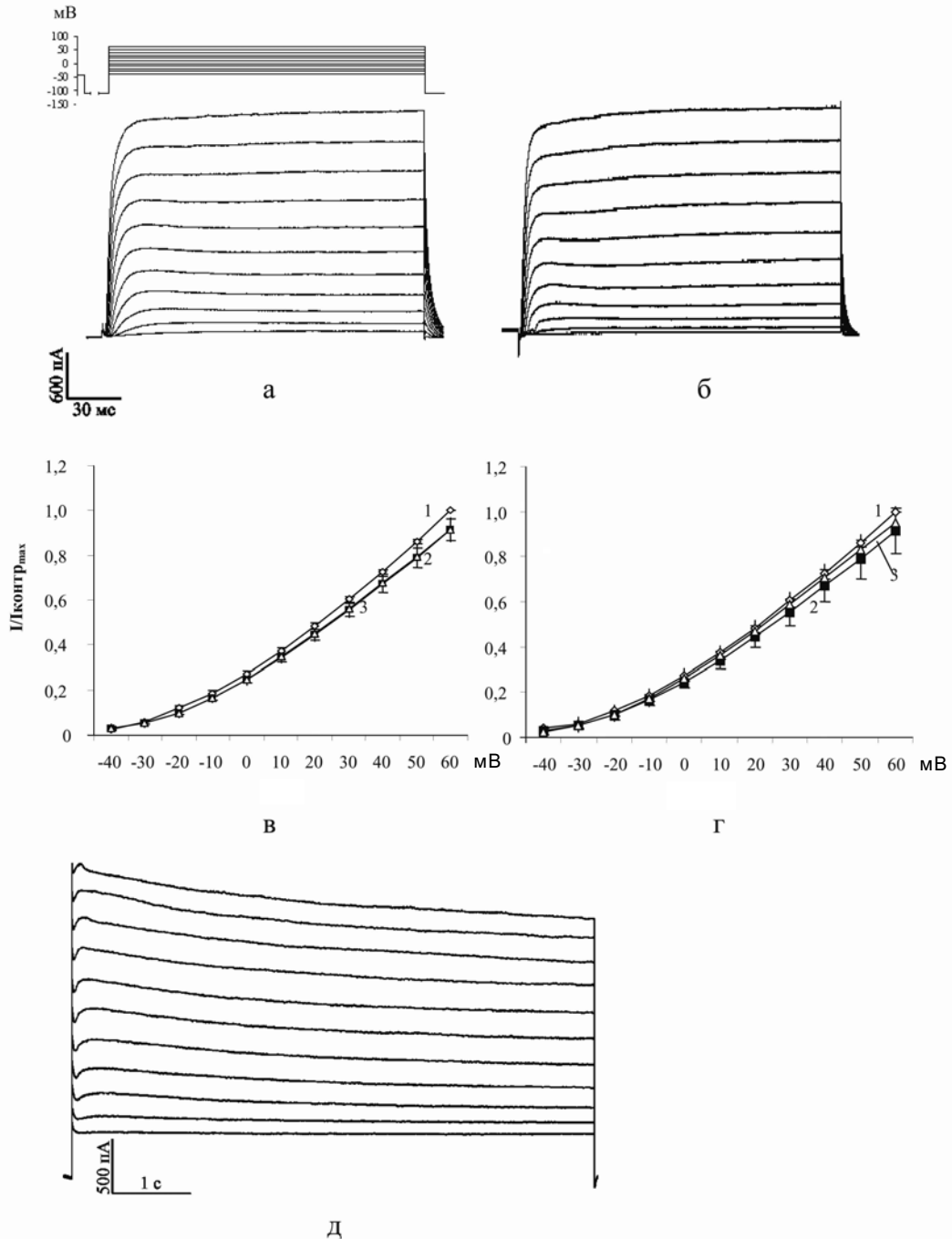


Рис.2. Інтегральний калієвий струм інтернейронів гіпокампа. Оригінальні записи сумарного калієвого струму, викликаного ступінчастою деполаризацією, у інтернейронів, що генерують потенціали дії з високою (а) та невисокою (б) частотою.

Усереднені вольт-амперні характеристики цього струму: 1 – у контролі, 2 – при наявності 100 нмоль/л (в, n=12) та 1 мкмоль/л (г, n=3) α -дендротоксину, 3 – після відмивання. Амплітуди струмів нормалізовані відносно максимального контрольного рівня. Оригінальний запис сумарного калієвого струму при використанні схеми стимуляції з тривалими деполаризувальними зсувами потенціалу (д)

струму з максимальною амплітудою при +60 мВ від 1,5 до 6 нА та порогом активації близько -50 мВ (див. рис. 2). В обох групах нейронів, що генерують потенціали дії з високою та невисокою частотою, протягом 200 мс інтервалу стимуляції інактивація цього струму практично не спостерігалася (див. рис. 2,а,б). Для ізоляції швидкого струму А-типу використовувалася додаткова схема стимуляції, яка відрізнялася від попередньої відсутністю гіперполяризувального передімпульсу. В таких умовах А-струм інактивований. При відніманні струмів, отриманих за допомогою цієї стимуляції, від загальних струмів, ми отримували різницю, що є калієвим струмом А-типу. На всіх досліджуваних нейронах, незалежно від характеру генерації потенціалів дії, А-струм мав поріг активації близько -45 мВ, стали часу інактивації 15–40 мс і становив $9,4 \% \pm 1,3 \%$ від загального вихідного струму. 4-амінопіридин у концентрації 1 ммоль/л не спричиняв вірогідного впливу на амплітуду А-струму (рис. 3).

Для перевірки часу інактивації інтегральних калієвих струмів і внеску в них компонента, що її не має, використовували стимуляцію, подібну до описаної для активації сумарних струмів, але з тривалістю деполяризувального стимулу 7 с. Стала часу спаду струмів, що мали інактивацію, при цій стимуляції була $3 \text{ с} \pm 0,15 \text{ с}$ ($n=8$), компонент без інактивації становив $83 \% \pm 1,7 \%$ ($n=8$) від амплітуди сумарного струму (див. рис. 2,д).

Для перевірки внеску в вихідний струм каналів родини Kv1 була досліджена дія на сумарний струм а-дендротоксину, відомого їх блокатора: на 12 нейронах у концентрації 100 нмоль/л і на 3 нейронах у концентрації 1 мкмоль/л. У всіх випадках α -дендротоксин не спричиняв вірогідного впливу на викликаний калієвий струм (див. рис. 2,в,г). Незначне зменшення амплітуд пояснюється скоріше не дією блокатора, а поступовим

повільним збільшенням опору доступу протягом експерименту, на користь чого говорить відсутність відновлення амплітуди після відмивання.

Для відокремлення струмів, що не мають часової інактивації, використовували стандартну деактиваційну схему стимуляції [1]. При цьому клітину утримували у постійному деполяризованому стані на рівні -20 мВ, від якого з інтервалом 15 с подавали гіперполяризувальні поштовхи тривалістю 1 с від -30 до -90 мВ (рис. 4,а). При тривалій деполяризації активованими залишалися лише канали, що не мали часової інактивації, і при гіперполяризаційних зміщеннях потенціалу спостерігався процес їх деактивації – так звані хвостові струми. На всіх досліджуваних нейронах при тривалій деполяризації виявлявся вихідний струм, що мав амплітуду 100–400 пА при -20 мВ і поріг активації близько -60 мВ (див. рис. 4). Його деактиваційні криві добре апроксимувалися двома експонентами зі сталими спаду $22 \pm 3,1$ та $306 \text{ мс} \pm 40 \text{ мс}$ ($n=32$) при зміні потенціалу від -20 до -50 мВ. Достовірної різниці у кінетиці струмів, між нейронами, що генерують потенціали дії з високою та невисокою частотою, не виявлено. Щоб виключити можливу участь у досліджуваному струмі D-струму, що має повільну інактивацію при негативних потенціалах [19, 25], на 5 нейронах було перевірено дію 4-амінопіридину, який у концентрації 0,2 ммоль/л не викликав жодних вірогідних змін амплітуди (див. рис. 4,є). За встановленими характеристиками виявлений калієвий струм можна віднести до М-струму [13, 18], який є результатом активації каналів родини KCNQ. Тому було вирішено перевірити дію на нього специфічних блокаторів каналів KCNQ лінопірдину і ХЕ991, а також активатора ретигабіну. Дію лінопірдину було досліджено на 16 нейронах, ХЕ991 – на 5 нейронах. Концентрацію блокаторів було підібрано так, щоб приблизно у 10 разів вона пере-

вищувала відому концентрацію половинного пригнічення для каналів KCNQ – 50 і 10 мкмоль/л для лінопірдину та ХЕ991 відповідно. Обидва блокатори не спричиняли достовірного зменшення амплітуди вихідного струму (див. рис. 4). Збільшення концентрації лінопірдину до 80 мкмоль/л також не призводило до появи ефекту.

Однак аплікація ретигабіну у концентрації 15 мкмоль/л достовірно зміщувала вольт-амперну характеристику струму, що не має часової інактивації, до більш негативних потенціалів, і, відповідно, збільшувала його амплітуду при потенціалі -20 мВ на $66\% \pm 14\%$ у порівнянні з контролем ($n=16$), (див. рис 4).

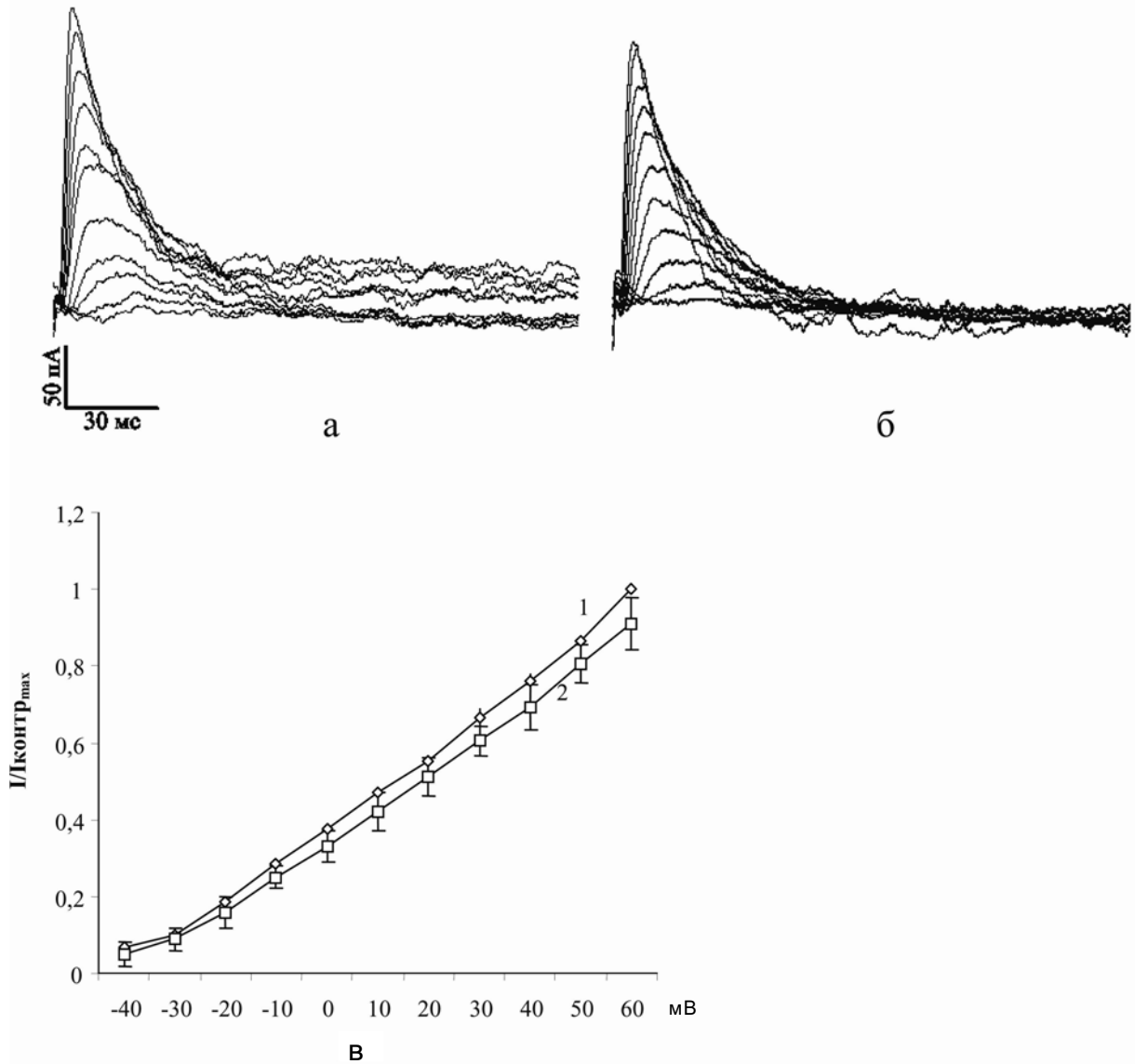


Рис.3. Оригінальні записи швидкого калієвого струму А-типу в контролі (а) і при наявності 4-амінопірдину (б) та відповідні, нормовані відносно максимального контрольного рівня, вольт-амперні характеристики (в, $n=6$): 1 – контроль, 2 – 4-амінопіридин

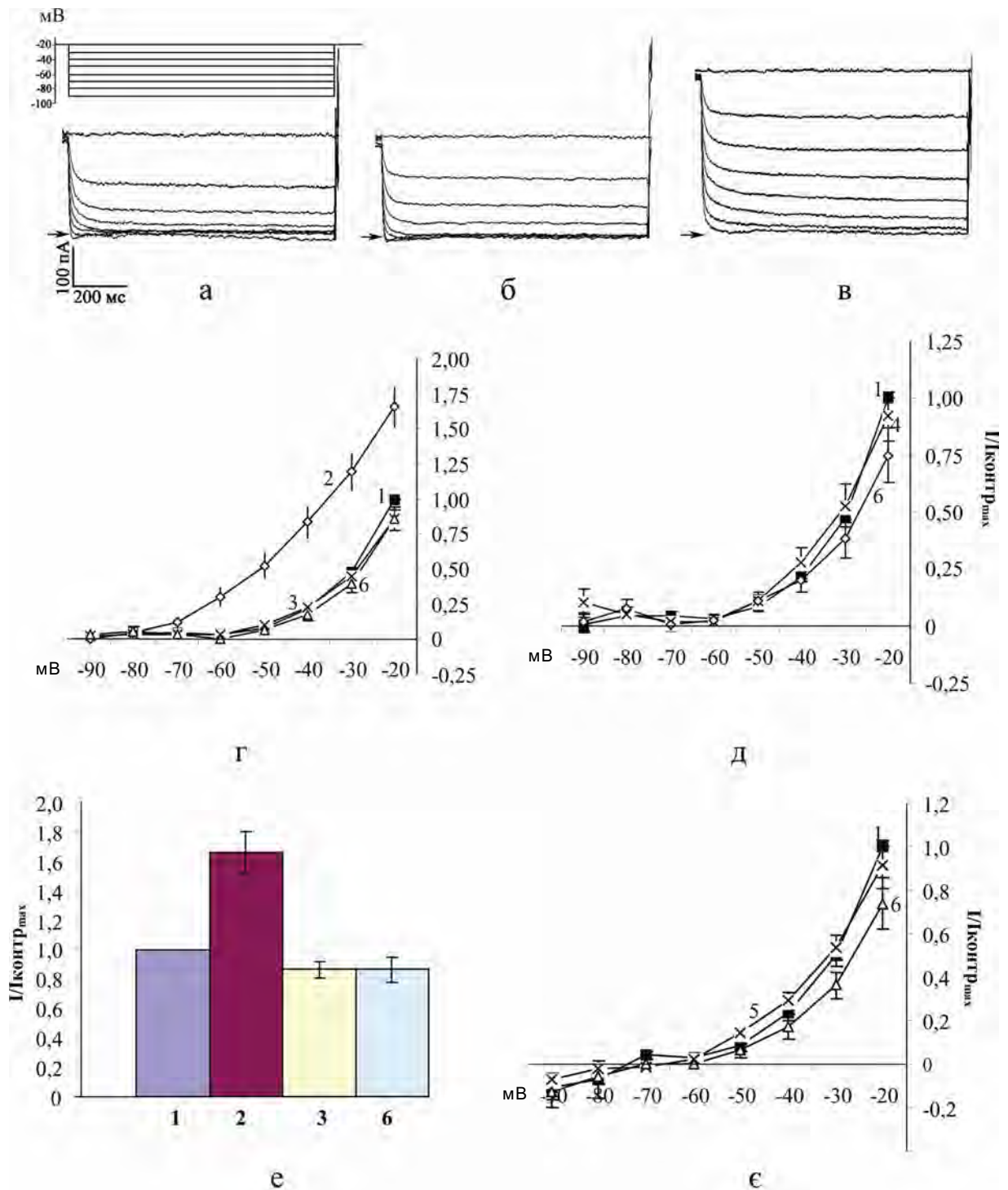


Рис. 4. Приклади оригінальних записів калієвого струму, що не має часової інактивації, в контролі (а), при наявності лінопірдину (б) чи ретигабіну (в). Стрілками помічений нульовий рівень струму. Усереднені вольт-амперні характеристики (г, д, е) та амплітуди при потенціалі -20 мВ (е) струму, що не має часової інактивації: 1 – у контролі, 2 – при наявності 15 мкмоль/л ретигабіну ($n=16$), 3 – 50 мкмоль/л лінопірдину ($n=16$), 4 – 10 мкмоль/л ХЕ991 ($n=5$), 5 – 0,2 ммоль/л 4-амінопірдину та 6 – після відмивання. Амплітуда струмів нормовані відносно максимального контрольного рівня

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Наші результати показали, що на гальмівних інтернейронах гіпокампа незалежно від типу їх електричної активності серед потенціалкерованих калієвих каналів, що активуються у відповідь на деполяризацію, основну частку складають ті, які мають дуже повільну часову інактивацію і які її не мають. Струм зі швидкою інактивацією А-типу також спостерігався на досліджуваних клітинах, але становив не більше ніж 15 % від загального вихідного струму. Така особливість ГАМКергічних інтернейронів уже була описана деякими авторами [3] і є однією з характерних відмінностей їх від пірамідальних нейронів. Відомо, що за А-струм відповідають калієві канали підтипів Kv3.3, Kv3.4, Kv4.1, Kv4.2 і Kv4.3, які дещо відрізняються своїми кінетичними параметрами і фармакологічними властивостями [4, 14]. Відсутність чутливості А-струму досліджених нейронів до 4-амінопіридину, а також його потенціал активації, який приблизно становить -50 мВ, дозволяють стверджувати, що в його формуванні беруть участь канали виключно родини Kv4.

Ми встановили, що потенціал активації загального калієвого струму, котрий виникав у відповідь на деполяризацію, був приблизно -50 мВ. За даними літератури, у межах від -40 до -60 мВ лежать потенціали активації каналів родин Kv1, Kv4 і KCNQ [4, 13]. Оскільки відсутність провідної участі родини Kv4 у формуванні вихідного струму вже очевидна з результатів про А-струм, то на цю роль залишаються два ймовірні кандидати – канали Kv1 і KCNQ. Звісно, виходячи з потенціалу активації сумарного струму, ми не можемо взагалі виключати наявність функціональних каналів родин Kv2 чи Kv3 на мембрані інтернейронів. До того ж, наявність Kv3.1 і Kv3.2 вважається необхідною умовою для здатності інтернейрона генерувати потенціали дії з високою частотою [11, 14]. Але

очевидно, що якщо їх діяльність дуже незначно впливає на форму вольт-амперної характеристики, то основна частка струму переноситься каналами інших родин. На користь цього говорять результати наших дослідів з тривалими деполяризуючими стимулами, з яких видно, що компонент струму з довгою інактивацією становить у середньому 17 % від загального струму. Він має сталу часу інактивації близько 3 с, що наближається до сталої часу інактивації каналів підтипів Kv3.1 і Kv3.2 [4].

Характерною особливістю каналів родини Kv1 є висока чутливість до α -дендротоксину: концентрація половинного пригнічення становить близько 10 нмоль/л для Kv1.1, Kv1.2 та Kv1.6, декілька сотень наномоль – для підтипів Kv1.3, Kv1.4 та Kv1.5 [4]. Наші досліді показали, що α -дендротоксин ніяк не впливає на потенціалактивованій калієвий струм гальмівних інтернейронів культури гіпокампа, що свідчить про відсутність Kv1 на їх мембрані.

Канали родини KCNQ вважаються єдиними калієвими каналами, що не мають часової інактивації. Для з'ясування наявності струму, що не інактивується, на гальмівних інтернейронах ми використовували спеціальну схему стимуляції, при якій нейрон довгий час утримується у деполяризованому стані. В таких умовах на всіх клітинах нами спостерігався постійний струм вихідного напрямку. Його нечутливість до низької концентрації 4-амінопіридину виключає можливу участь у його формуванні калієвого струму D-типу, який має повільну інактивацію при негативних потенціалах, але повністю блокується 4-амінопіридином у концентрації 100 мкмоль/л [19, 25]. Кінетичні показники досліджуваного струму, а саме потенціал активації та сталі часу деактиваційних кривих, були близькі до відомих [13, 18] для каналів KCNQ. Але специфічні блокатори лінопірдин і ХЕ991 не спричиняли помітного впливу на цей струм навіть у концентрації, що у 10–12 разів перевищувала

встановлену для KCNQ [13, 17, 23, 24] концентрацію половинного пригнічення. Разом з тим ретигабін, який специфічно зміщує потенціал активації каналів родини KCNQ до більш полярних значень [10, 15, 21], вірогідно збільшував амплітуду струму і зсував його вольт-амперну характеристику до більш негативних потенціалів, що є безумовним свідомством наявності функціональних каналів KCNQ на мембрані досліджуваних клітин. Пояснити такі дещо суперечні факти нам уявляється можливим двома шляхами. По-перше, можливо, канали KCNQ наявні на інтернейронах у невеликій кількості чи, з якихось причин, у неактивному стані, і їх внесок у вихідний струм за звичайних умов мізерний, хоч їх активація здатна суттєво змінити стан нервової клітини. Зареєстрований нами при відсутності ретигабіну струм зумовлений роботою якихось інших, досі невідомих форм калієвих каналів. Теоретично це можливо, оскільки нині відомо 11 родин Kv, причому останні відкриті зовсім недавно [12]. Шість з них (Kv5, Kv6, Kv8–Kv11) не здатні утворювати гомомерних функціональних каналів, але утворюють гетеромери з іншими родинами (в основному, з Kv2), змінюючи їх властивості [4]. Але випадковий збіг їх кінетичних показників з показниками каналів KCNQ виглядає дуже малоймовірним. Тому більш реальним нам здається друге припущення – наявність нечутливих до блокаторів форм каналів KCNQ чи клітинних механізмів, здатних суттєво знижувати цю чутливість, хоча уявити принципи дії цих механізмів досить важко.

**O.O.Grygorov, A.O.Moskalyuk, S.A.Fedulova,
N.S.Veselovsky**

VOLTAGE-ACTIVATED POTASSIUM CHANNELS OF THE INHIBITORY INTERNEURONS OF HIPPOCAMPAL CULTURE

Potassium channels make up the largest family of voltage-activated channels and play a key role in maintenance of cell excitability and in transmission of information within the

nervous system. The aim of this work was to find out the specific subtypes of voltage-activated potassium channels peculiar to GABAergic interneurons of rat hippocampal culture. It was shown that total depolarization-evoked outward potassium current in any interneuron studied had the activation threshold about -50 mV. The specific Kv1 channels' blocker a-DTX influenced neither amplitude nor kinetics of total current, thus we excluded the participation of these channels in its forming. The transient A-current made up 9.4±1.3% of the amplitude of total current and had low sensitivity to 4-AP that was an evidence of the presence of Kv4 channels in hippocampal interneurons. The slow inactivating component of integral potassium current was relatively small and had the time constant of inactivation 3 ± 0.15 s that is typical for delayed rectifier potassium channels of Kv2 and Kv3 sub-families. The main contribution (83 ± 1.7 % of total amplitude) to the integral current belonged to the non-inactivating current. Prolonged depolarization of any interneuron tested to -20 mV evoked a steady non-inactivating outward current with amplitude 100-400 pA and activation threshold about -60 mV. Retigabine shifted its I-V plot to more negative values and increased the amplitude at -20 mV by 66±14%. These facts can be evidence of the participation of KCNQ channels sub-family in the forming of non-inactivating current. But selective blockers of KCNQ channels linopirdine and XE991 had very small influence on steady-state outward current that means the current appears owing to activity of linopirdine-insensitive forms of KCNQ channels or channels of a different, unknown family.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine;

International Centre for Molecular Physiology, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Brown D. A., Adams P. R. Muscarinic suppression of a novel voltage-sensitive K⁺ current in a vertebrate neurone // *Nature*. – 1980. – **283**, № 5748. – P. 673–676.
2. Burgess N., Maguire E. A., O'Keefe J. The human hippocampus and spatial and episodic memory // *Neuron*. – 2002. – **35**, №4. – P. 625–641.
3. Chikwendu A., McBain C. J. Two temporally overlapping «delayed-rectifiers» determine the voltage-dependent potassium current phenotype in cultured hippocampal interneurons // *J.Neurophysiol.* – 1996. – **76**, №3. – P. 1477–1490.
4. Coetzee W. A., Amarillo Y., Chiu J. et al. Molecular diversity of K⁺ channels // *Ann.N.Y.Acad.Sci.* – 1999. – **868**. – P. 233–285.
5. Fedulova S. A., Vasilyev D. V., Isaeva E. V. et al. Possibility of multiquantal transmission at single inhibitory synapse in cultured rat hippocampal neurons // *Neuroscience*. – 1999. – **92**, № 4. – P. 1217–1230.
6. Freund T. F., Buzsaki G. Interneurons of the hippocampus // *Hippocampus*. – 1996. – **6**, № 4. – P. 347–470.
7. Gulyas A. I., Toth K., McBain C. J. et al. Stratum

- radiatum giant cells: a type of principal cell in the rat hippocampus // Eur.J.Neurosci. – 1998. – **10**, № 12. – P. 3813–3822.
8. Jan L. Y., Jan Y. N. Voltage-gated and inwardly rectifying potassium channels // J.Physiol. – 1997. – **505**, № 2. – P. 267–282.
 9. Madison D. V., Nicoll R. A. Control of the repetitive discharge of rat CA 1 pyramidal neurones in vitro // J.Physiol. – 1984. – **354**. – P. 319–331.
 10. Main M. J., Cryan J. E., Dupere J. R. et al. Modulation of KCNQ2/3 potassium channels by the novel anticonvulsant retigabine // Mol.Pharmacol. – 2000. – **58**, №2. – P. 253–262.
 11. Martina M., Schultz J. H., Ehmke H. et al. Functional and molecular differences between voltage-gated K⁺ channels of fast-spiking interneurons and pyramidal neurons of rat hippocampus // J.Neurosci. – 1998. – **18**, №20. – P. 8111–8125.
 12. Ottschytsch N., Raes A., Van Hoorick D. et al. Obligatory heterotetramerization of three previously uncharacterized Kv channel alpha-subunits identified in the human genome // Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A. – 2002. – **99**, №12. – P. 7986–7991.
 13. Passmore G. M., Selyanko A. A., Mistry M. et al. KCNQ/M currents in sensory neurons: significance for pain therapy // J.Neurosci. – 2003. – **23**, №18. – P. 7227–7236.
 14. Rudy B., Chow A., Lau D. et al. Contributions of Kv3 channels to neuronal excitability // Ann.N.Y.Acad.Sci. – 1999. – **868**. – P. 304–343.
 15. Rundfeldt C., Netzer R. The novel anticonvulsant retigabine activates M-currents in Chinese hamster ovary-cells transfected with human KCNQ2/3 subunits // Neurosci.Lett. – 2000. – **282**, №1–2. – P. 73–76.
 16. Savic N., Pedarzani P., Sciancalepore M. Medium afterhyperpolarization and firing pattern modulation in interneurons of stratum radiatum in the CA3 hippocampal region // J.Neurophysiol. – 2001. – **85**, №5. – P. 1986–1997.
 17. Schnee M. E., Brown B. S. Selectivity of linopirdine (DuP 996), a neurotransmitter release enhancer, in blocking voltage-dependent and calcium-activated potassium currents in hippocampal neurons // J. Pharmacol. Exp.Therap. – 1998. – **286**, №2. – P. 709–717.
 18. Shah M. M., Mistry M., Marsh S. J. et al. Molecular correlates of the M-current in cultured rat hippocampal neurons // J.Physiol. – 2002. – **544**, №1. – P. 29–37.
 19. Storm J. F. Temporal integration by a slowly inactivating K⁺ current in hippocampal neurons // Nature. – 1988. – **336**, №6197. – P. 379–381.
 20. Storm J. F. Potassium currents in hippocampal pyramidal cells // Prog.Brain Res. – 1990. – **83**. – P. 161–187.
 21. Tatulian L., Delmas P., Abogadie F. C. et al. Activation of expressed KCNQ potassium currents and native neuronal M-type potassium currents by the anti-convulsant drug retigabine // J.Neurosci. – 2001. – **21**, № 15. – P. 5535–5545.
 22. Veselovsky N. S., Engert F., Lux H. D. Fast local superfusion technique // Pflug. Arch. – 1996. – **432**, №2. – P. 351–354.
 23. Wang H. S., Brown B. S., McKinnon D. et al. Molecular basis for differential sensitivity of KCNQ and I(Ks) channels to the cognitive enhancer XE991 // Mol. Pharmacol. – 2000. – **57**, №6. – P. 1218–1223.
 24. Wang H. S., Pan Z., Shi W. et al. KCNQ2 and KCNQ3 potassium channel subunits: molecular correlates of the M-channel // Science. – 1998. – **282**, №5395. – P. 1890–1893.
 25. Wu R. L., Barish M. E. Two pharmacologically and kinetically distinct transient potassium currents in cultured embryonic mouse hippocampal neurons // J.Neurosci. – 1992. – **12**, № 6. – P. 2235–2246.

*Ін-т фізіології ім. О.О.Богомольця НАН України, Київ;
Міжнар. центр молек. фізіології НАН України, Київ*

*Матеріал надійшов
до редакції 11.05.2006*