

РОЛЬ ТЕТРАЭТИЛАММОНИЙЧУВСТВИТЕЛЬНОГО КОМПОНЕНТА КАЛИЕВОГО ТОКА В ГЕНЕРАЦИИ ВЫСОКОЧАСТОТНОЙ ТОНИЧЕСКОЙ ИМПУЛЬСАЦИИ ГАНГЛИОЗНЫМИ КЛЕТКАМИ СЕТЧАТКИ КРЫСЫ

Поступила 31.10.10

С использованием метода фиксации потенциала/тока в конфигурации «целая клетка» была изучена роль высокочувствительного к тетраэтиламмонiu (ТЭА) компонента интегрального калиевого тока в формировании высокочастотной тонической импульсации, генерируемой ганглиозными клетками сетчатки (ГКС) крысы. Аппликации 0.5 мМ ТЭА приводили к снижению частоты вызванной тонической импульсации ГКС на 63 % (от 55 ± 10 в контроле до $26 \pm 5 \text{ с}^{-1}$ в присутствии блокатора; $n = 11$). Длительность одиночного потенциала действия на уровне полуамплитуды в данном случае увеличивалась на 64 % (от 1.1 ± 0.1 до 1.8 ± 0.1 мс; $n = 11$), скорость реполяризации снижалась на 54 % (от -101 ± 9 до -46 ± 5 мВ/мс; $n = 11$), а амплитуда следовой гиперполяризации – на 62 % (от -16 ± 2 до -6 ± 2 мВ; $n = 11$). Под действием 0.5 мМ ТЭА амплитуда интегрального калиевого тока в ГКС уменьшалась; при этом чувствительный к блокатору компонент тока был равен 0.41 ± 0.05 нА ($n = 6$; значение в контроле составляло 1.62 ± 0.14 нА; $n = 12$). Таким образом, умеренное (в среднем на 25 %) снижение амплитуды калиевого тока существенно влияло на характеристики импульсной активности ГКС. ТЭА-чувствительный компонент тока был подобен описанному в литературе калиевому току Kv3.1/Kv3.2. Полученные данные указывают на ключевую роль высокочувствительного к ТЭА компонента калиевого тока (предположительно идущего через каналы Kv3.1/Kv3) в генерации высокочастотной тонической активности ГКС.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ганглиозные клетки сетчатки, высокочастотная импульсация, калиевый ток, тетраэтиламмоний.

ВВЕДЕНИЕ

Ганглиозные клетки сетчатки (ГКС) – нейроны, передающие в ЦНС импульсацию от биполярных и амакриновых клеток, – играют важную роль в интеграции, кодировании и обработке зрительной информации. Характер электрической активности и особенности ионных проводимостей ГКС у различных видов животных были описаны ранее весьма подробно [1–3], однако механизмы, обеспечивающие тоническую генерацию высокочастотной импульсной активности этими клетками, требуют более детального изучения.

Как установлено в настоящее время, высокочастотный характер импульсации многих типов ней-

ронов обусловлен тем, что в мембранах данных клеток экспрессируются калиевые каналы Kv3.1/Kv3.2, т. е. высокопороговые каналы задержанного выпрямления с медленной инактивацией [4–6]. Кинетика активации/деактивации указанных каналов способствует быстрой реполяризации мембраны и, следовательно, развитию потенциалов действия (ПД), имеющих малую длительность, без активации токов, которые обуславливают увеличение рефрактерного периода [5]. Существенная роль каналов Kv3.1/Kv3.2 в формировании импульсации ГКС была установлена у рыб [1]. Эти данные, однако, не могут быть прямо экстраполированы на ГКС млекопитающих, что связано с существенными различиями электрофизиологических свойств ГКС у разных видов животных [2, 3].

Известно, что Kv3.1/Kv3.2-каналы блокируются тетраэтиламмонием (ТЭА) в весьма низких концентрациях ($IC_{50} = 0.15$ мМ) [7]. Фармакологиче-

¹ Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины, Киев (Украина).

² Международный центр молекулярной физиологии НАН Украины, Киев (Украина).

Эл. почта: kir.kuznet@gmail.com (К. И. Кузнецов).

ские характеристики калиевых каналов указывают на то, что в условиях аппликации 0.5 мМ ТЭА Kv3.1/Kv3.2-проводимость блокируется практически полностью. При этом, однако, нельзя исключить влияния блокатора на проводимость калиевых каналов ряда других типов – потенциалуправляемых Kv1.1, Kv3.3/Kv3.4 и Kv7.2 (KCNQ2), а также кальцийактивируемых (BK) [4–7] (подробнее см. в Обсуждении). Можно полагать, что выяснение влияния ТЭА, действующего в низких концентрациях, на функциональные свойства ГКС позволит четче установить роль калиевого тока, идущего через Kv3.1/Kv3.2-каналы, в генерации высокочастотной тонической импульсации упомянутыми выше нейронами сетчатки.

МЕТОДИКА

Исследования были проведены на четырехшестинедельных белых крысах линии Вистар. Животных умерщвляли путем помещения их в атмосферу CO₂ с последующей декапитацией; данный прием находится в соответствии с правилами работы с подопытными животными в учреждениях НАН Украины. Глазные яблоки удаляли и вскрывали по границе *ora serrata*; хрусталик удаляли, после чего сетчатку отслаивали от пигментного эпителия и перерезали зрительный нерв в области оптического диска. Сетчатку фиксировали иглами диаметром 25 мкм ганглиозным слоем вверх ко дну регистрационной камеры (объем ~1 мл). Камеру помещали на предметном столике прямого микроскопа. В работе использовали водноиммерсионный объектив Olympus LUMPlan 40X с рабочим расстоянием 3.6 мм.

Внутреннюю ограничительную мембрану, образованную отростками мюллеровских глиальных клеток, и слой оптических волокон, ограничивающие доступ к сомат ГКС, удаляли механически с помощью кончика пэтч-пипетки, как было описано ранее [2, 3]. Отведение токов осуществляли от клеток, имеющих гладкую поверхность и негранулированную цитоплазму. Отведения выполняли при комнатной температуре ($t \sim 22$ °C).

Регистрационную камеру перфузировали со скоростью ~2 мл/мин насыщенным карбогеном внеклеточным раствором, содержащим в себе (в миллимолях на 1 л): NaCl – 140, KCl – 3, CaCl₂ – 2, MgCl₂ – 2, HEPES – 10, глюкозу – 12; рН доводили до 7.4 при помощи NaOH. Состав внутриклеточного раствора был

следующим (в миллимолях на 1 л): калий-глюконат – 100, KCl – 50, MgCl₂ – 5, EGTA – 10, HEPES – 20; рН доводили до 7.4 путем добавления KOH. Блокаторы в необходимой концентрации добавляли непосредственно в перфузирующий раствор.

Отведения в режиме фиксации тока/потенциала в конфигурации “целая клетка” осуществляли с использованием усилителя Axopatch-200B. Сигналы подвергали низкочастотной фильтрации (частота среза 5 кГц). Трансмембранные токи и потенциалы записывали и сохраняли для последующего анализа с помощью АЦП Digidata 1322A, подключенного к персональному компьютеру с программным обеспечением pCLAMP 8.2 («Axon Instruments», США). Сигналы оцифровывали с частотой дискретизации 10⁴ с⁻¹.

Для отведения использовали пэтч-пипетки из боросиликатного стекла с диаметром кончика 1–1.5 мкм; сопротивление пипеток составляло 4–7 МОм. Ёмкостные артефакты пипеток компенсировали после образования гигаомного контакта непосредственно перед прорывом клеточной мембраны. Клеточную ёмкость не компенсировали, а соответствующие артефакты использовали в качестве удобного маркера для корректного вычитания токов (см. ниже).

Анализировали только данные, полученные на клетках со стабильным мембранным потенциалом (МП) покоя не менее –50 мВ и ПД, превышающими нулевой уровень МП. Высокая амплитуда ПД (среднее значение которой в наших опытах составляло 87 ± 4 мВ; $n = 11$) была дополнительным критерием отведения именно от ГКС, а не от амакриновых клеток (амплитуда ПД в последних в среднем составляет 55 мВ [3]). Все опыты с фиксацией тока проводили при поддерживаемом потенциале –70 мВ, для чего через клетку пропускали соответствующий гиперполяризующий ток.

Сопротивление, постоянную времени и ёмкость мембраны клеток измеряли в режиме фиксации тока соответственно характеристикам электротонического потенциала, вызванного приложением гиперполяризующего толчка тока малой амплитуды (–10 пА) и усредненного.

Генерацию ПД в ГКС вызывали приложением серий деполяризующих прямоугольных толчков тока длительностью 500 мс с инкрементом амплитуды 5–10 пА. Максимальная амплитуда стимула для различных клеток варьировала от 50 до 300 пА (в зависимости от сопротивления мембраны клетки); приложение толчков тока большей амплитуды

ды вызывало блокирование генерации ПД. Анализировались лишь данные, касающиеся тонических нейронов, т. е. клеток, способных постоянно генерировать ПД во время действия деполяризующего стимула. Для большинства исследованных клеток мгновенная частота генерации ПД была максимальной в начале приложения деполяризующего толчка тока; потом она экспоненциально снижалась и через 200–300 мс достигала стационарного уровня. Как параметр, характеризующий способность данной клетки к высокочастотной генерации, мы определяли максимальное значение средней частоты ПД, измеренное в пределах последних 100 мс действия соответствующего длительного деполяризующего стимула [2].

Параметры отдельного ПД измеряли в условиях минимальной сверхпороговой стимуляции. Для каждой клетки учитывали порог генерации ПД, его амплитуду, длительность на уровне половины амплитуды ($t_{0,5}$), скорость реполяризации и амплитуду следовой гиперполяризации.

Анализ потенциалуправляемых калиевых токов клетки производили в режиме фиксации тока после тестирования тонического характера генерации ПД, затем переходили к измерению токов в режиме фиксации потенциала. Блокирование входящих натриевых и кальциевых токов обеспечивалось использованием соответственно 1 мкМ тетродотоксина (ТТХ) и 200 мкМ хлорида кадмия. Поддерживаемый потенциал был равен -70 мВ. Непосредственно перед приложением командного деполяризующего толчка на клетку с целью устранения инактивации калиевых токов подавали преимпульс длительностью 200 мс, гиперполяризующий ее мембрану до -100 мВ. Для активации калиевого тока использовали деполяризующие толчки длительностью 400 мс с инкрементом $+10$ мВ (до $+40$ мВ). Характеристики ТЭА-чувствительного тока определяли в ходе последующего анализа путем поточечного вычитания значений тока в присутствии блокатора от контрольных значений. Для построения усредненной вольт-амперной характеристики соответствующие данные нормировали относительно контрольного значения тока при потенциале $+40$ мВ.

В работе применялись реактивы производства «Sigma» (США).

Числовые данные представлены ниже в виде средних \pm ошибка среднего. Для межгрупповых сравнений использовался парный t -тест Стьюдента. Различия средних считали статистически достоверными при $P < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Пассивные электрические свойства ГКС. Среднее значение потенциала покоя в исследованной группе ГКС составляло -50 ± 1 мВ ($n = 11$), что согласуется с данными, полученными в других работах [1–3]. Сопротивление мембраны (среднее значение 0.8 ± 0.15 , диапазон 0.3–1.4 ГОм), постоянная времени мембраны (20 ± 3 , 9–42 мс) и ёмкость (30 ± 4 , 11–50 пФ) существенно варьировали у разных клеток. Такой разброс индивидуальных значений согласуется с результатами, которые были получены ранее на ГКС, относящихся к морфологически различным типам [2].

Характер импульсной активности и форма отдельных ПД. Высокочастотная тоническая импульсация была зарегистрирована в 11 ГКС (рис. 1, А, 1). Средняя частота такой импульсации составляла 55 ± 10 с $^{-1}$ ($n = 11$); частота генерации ПД различными клетками варьировала от 28 до 77 с $^{-1}$.

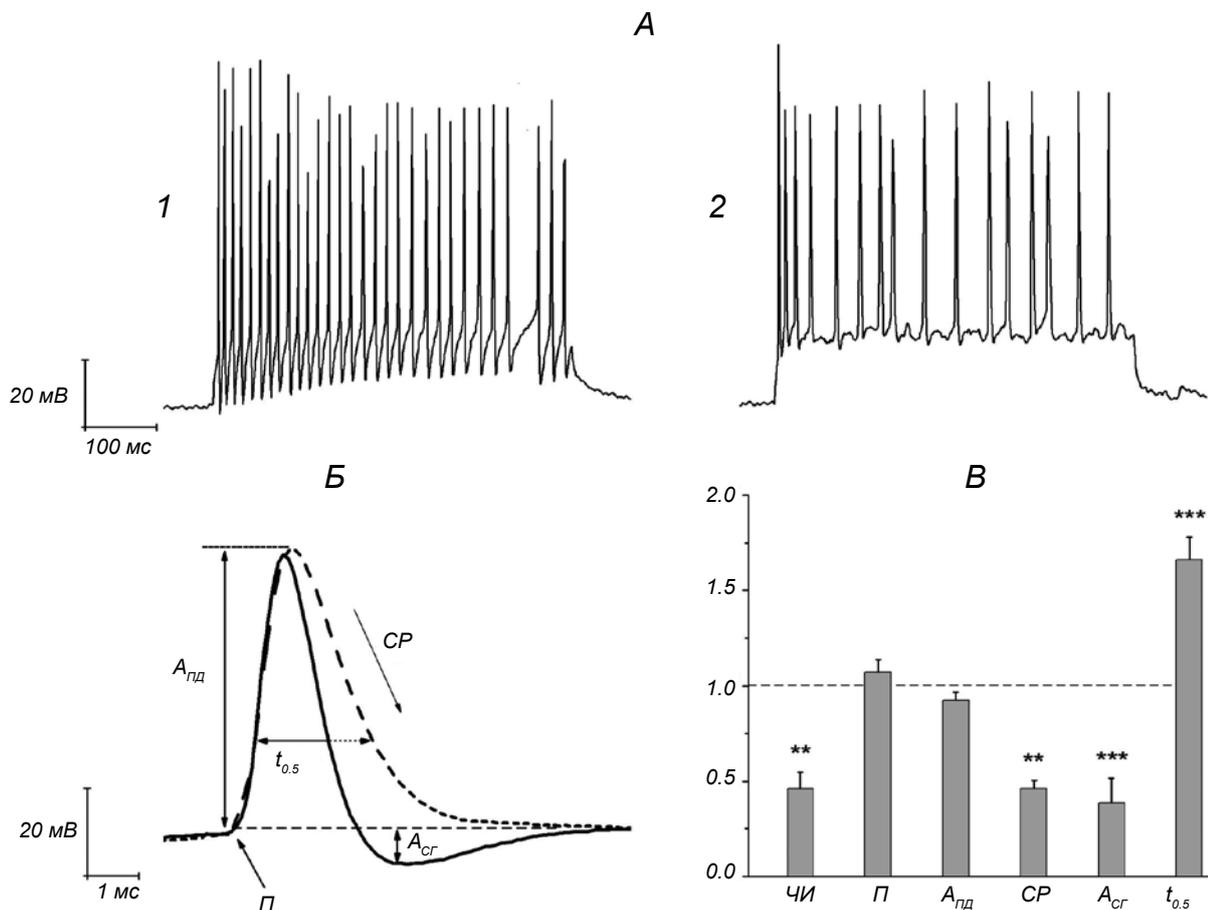
Средние значения измеренных параметров ПД клеток с тонической импульсацией ($n = 11$) были следующими: порог генерации -46 ± 2 мВ, амплитуда 87 ± 4 мВ, $t_{0,5}$ 1.1 ± 0.1 мс, скорость реполяризации -102 ± 11 мВ/мс и амплитуда следовой гиперполяризации -18 ± 2 мВ (рис. 1, Б).

Влияние блокаторов калиевых каналов на импульсацию ГКС и форму ПД. Аппликация 0.5 мМ ТЭА существенно (в среднем на 63 %) снижала частоту импульсации во всех тестированных клетках (рис. 1, А, 2); среднее значение частоты тонической активности в присутствии блокатора в данной концентрации составляло 26 ± 5 с $^{-1}$ ($n = 11$).

После аппликации ТЭА ряд параметров одиночного ПД изменялись. Длительность («ширина») ПД увеличивалась на 64 % (в среднем до 1.8 ± 0.3 мс), амплитуда следовой гиперполяризации снижалась на 62 (до -6 ± 2 мВ), а скорость реполяризации – на 54 % (до -46 ± 5 мВ/мс; $n = 11$), причем соответственные изменения отмечались во всех случаях. При этом порог генерации и полная амплитуда ПД достоверно не изменялись (рис. 1, Б).

Нормированные соответственно контрольным величинам средние значения измеренных параметров в присутствии блокатора в указанной концентрации приведены на рис. 1, В.

Потенциалуправляемые калиевые токи в ГКС крыс. Калиевые токи регистрировали, как указывалось выше, в условиях блокирования входящих потенциалуправляемых натриевых и кальциевых токов с помощью соответственно 1 мкМ ТТХ и



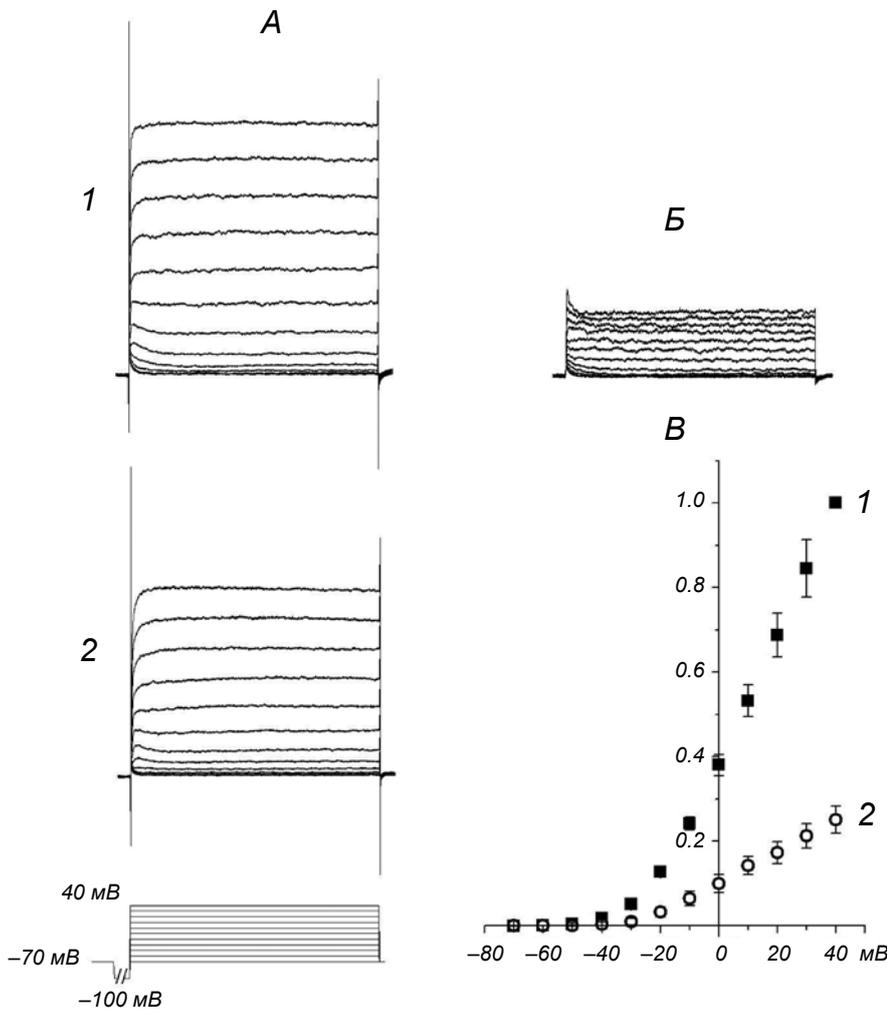
Р и с. 1. Влияние аппликации 0.5 мМ тетраэтиламмония (ТЭА) на частоту импульсной активности и параметры потенциалов действия (ПД), генерируемых ганглиозными клетками сетчатки глаза крысы.

A – серии ПД, вызванные приложением ступеньки деполяризующего тока амплитудой 50 пА и длительностью 500 мс в условиях контроля (1) и аппликации 0.5 мМ ТЭА (2). *Б* – изображение одиночного ПД в контроле и в присутствии ТЭА (сплошная и штриховая линии соответственно). *В* – диаграмма нормированных (относительно контрольных величин, принятых за единицу) средних значений частоты импульсации и параметров отдельного ПД в присутствии ТЭА. *ЧИ* – средняя частота импульсации нейронов, *П* – порог возникновения ПД, *A_{нд}* – амплитуда ПД, *CP* – скорость реполяризации, *A_{ср}* – амплитуда следовой гиперполяризации, *t_{0.5}* – длительность ПД на уровне 50 % его амплитуды. Двумя и тремя звездочками показаны случаи значимых отличий от контроля с $P < 0.01$ и $P < 0.001$ соответственно.

Р и с. 1. Вплив аплікації 0.5 мМ тетраетиламонію на частоту імпульсної активності та параметри потенціалів дії, генерованих гангліозними клітинами сітківки ока щура.

200 мкМ хлорида кадмия. Действие деполяризующих тест-потенциалов, превышающих -40 мВ, вызывало входящие токи, инактивация которых была медленной или практически отсутствовала (рис. 2, *A*, 1). Средняя максимальная амплитуда исследуемого калиевого тока (при потенциале +40 мВ) была равна 1.62 ± 0.14 нА ($n = 12$). Блокирующее влияние ТЭА на калиевые токи тестировали с использованием той же его концентрации, что и в опытах с фиксацией тока (0.5 мМ). Аппликация ТЭА приводила к умеренному (~25 %), но статистически достоверному подавлению интегрального калиевого

тока (*A*, 2). Средняя величина ТЭА-чувствительного компонента («разностного» тока) при потенциале +40 мВ составляла 0.41 ± 0.05 нА ($n = 6$). Данный ток (*A*) по своим свойствам (потенциал активации, медленная или практически отсутствующая инактивация) был подобен описанным в литературе Kv3.1/Kv3.2-токам, зарегистрированным как в различных нативных нейронах [4, 5, 8–11], так и в искусственных экспрессионных системах [4, 5]. Графики усредненной вольт-амперной характеристики интегрального калиевого тока и «разностного» тока приведены на *Б*.



Р и с. 2. Потенциалуправляемые калиевые токи в ганглиозных клетках сетчатки глаза крысы.

А – интегральные калиевые токи, которые вызывались путем приложения деполяризующего стимула длительностью 400 мс, изменяемого с инкрементом +10 мВ до уровня +40 мВ, в условиях нормы (1) и после аппликации 0.5 мМ тетраэтиламмония – ТЭА (2). *Б* – ТЭА-чувствительный компонент калиевого тока, полученный путем поточечного вычитания значений тока в присутствии ТЭА, из токов, регистрируемых в контрольных условиях. *В* – усредненные вольт-амперные характеристики (ВАХ) калиевых токов. Значения амплитуд токов нормированы относительно значений калиевого тока в контроле при потенциале +40 мВ. 1 – ВАХ интегрального калиевого тока, 2 – ВАХ ТЭА-чувствительного компонента тока (разности токов, наблюдаемых в условиях контроля и аппликации 0.5 мМ ТЭА).

Р и с. 2. Потенціалкеровані калієві струми в гангліозних клітинах сітківки ока щура.

ОБСУЖДЕНИЕ

С помощью электрофизиологического отведения в конфигурации “целая клетка” в условиях фиксации тока/потенциала мы исследовали свойства ГКС крыс, обуславливающие генерацию этими нейронами импульсной активности определенного типа (тонической и имеющей относительно высокую частоту). ГКС млекопитающих заметно различаются по своим морфологическим, функциональным и электрофизиологическим свойствам. Однако некоторые особенности импульсации у большинства этих клеток достаточно сходны. ГКС генерируют высокочастотные тонические последовательности ПД в ответ на длительную деполяризацию [2]. Все исследованные нами в данной работе нейроны генерировали ПД относительно малой длительности ($t_{0.5} = 1.1 \pm 0.1$ мс; $n = 11$), а их поддерживаемая частота была весьма высокой (55 ± 10 с⁻¹; $n = 11$). По

своим электрофизиологическим свойствам такие ГКС подобны некоторым центральным нейронам, также способным к генерации высокочастотной тонической импульсации, – ряду интернейронов неокортекса [9] и гиппокампа [10], нейронам ядер солитарного тракта [8] и клеткам Пуркинье [11].

При аппликации блокатора калиевых каналов ТЭА в весьма низкой концентрации (0.5 мМ) частота вызванной тонической импульсации снижалась в среднем на 62, скорость реполяризации отдельного ПД – на 54, а амплитуда следовой гиперполяризации – на 62 %. Длительность ПД возрастала в среднем на 64 %. Порог генерации ПД, амплитуда и скорость деполяризации в данном случае не претерпевали достоверных изменений. В опытах с фиксацией потенциала приложение ТЭА в той же концентрации приводило к умеренному (на 25 %) уменьшению амплитуды интегрального калиевого тока. Полученные результаты свидетельствуют о том, что чув-

ствительный к ТЭА в низких концентрациях компонент интегрального калиевого тока («разностный» ток, зарегистрированный в наших экспериментах) играет ключевую роль в обеспечении высокочастотной тонической генерации импульсов ГКС крысы. По своим характеристикам (значение порога активации, быстрая активация/деактивация, отсутствие инактивации) указанный «разностный» ток был подобен Kv3.1/Kv3.2-токам в различных нейронах, описанным в литературе [4, 5, 8–11].

Кроме блокирования Kv3.1/Kv3.2-каналов, согласно имеющимся литературным данным, ТЭА в концентрации 0.5 мМ может также блокировать потенциалуправляемые калиевые каналы типов Kv3.3/Kv3.4 (эффективные концентрации 0.09–0.3 мМ), Kv1.1 (0.3–0.5 мМ) и Kv7.2 (0.16–0.5 мМ) и, кроме того, кальцийактивируемые калиевые каналы Maxi-K (BK) (0.08–0.33 мМ) [4, 6, 7, 9].

По опубликованным данным, постоянная времени инактивации потенциалуправляемых калиевых каналов Kv3.3 и Kv3.4 составляет соответственно 240 и 20 мс [6]. Зарегистрированный в нашей работе «разностный» ток не проявлял выраженной инактивации на протяжении 400 мс (рис. 2, Б). Для каналов Kv7.2 характерна очень медленная кинетика активации/инактивации ($\tau_m = 157$ мс, $\tau_h = 130$ мс) [6, 8]; соответственно, они не могут существенно активироваться во время развития ПД. Таким образом, наблюдавшиеся нами эффекты аппликации ТЭА не могут быть связаны с блокированием потенциалуправляемых калиевых каналов данных типов. Этот вывод соответствует заключению о невозможности обеспечения генерации длительной тонической импульсации нейронов за счет функционирования калиевых каналов с быстрой инактивацией [10].

Известно [6, 7], что Kv1.1-ток отличается значительно более низким порогом активации (–60 мВ), чем зарегистрированный в нашей работе «разностный» ток (рис. 2). Эта особенность исключает возможность участия активации соответствующей проводимости в генерации высокочастотной тонической импульсации ГКС крысы.

В тех нервных клетках, в которых имеются кальцийактивируемые калиевые каналы (BK-каналы), они представлены двумя популяциями [12]. Активация первой из них обеспечивает «быстрый» компонент BK-тока, который инициируется через 5–10 мс и достигает максимума через 40 мс после входа в клетку ионов кальция через потенциалуправляемые кальциевые каналы. Второй, «медленный», компонент активируется примерно через

50 мс после деполяризации клетки. «Медленный» компонент BK-тока полностью блокируется в присутствии EGTA в концентрации более 1 мМ [12]. В нашей же работе концентрация EGTA во внутриклеточной среде составляла 10 мМ. Значения частоты зарегистрированной вызванной импульсации практически не изменялись на протяжении достаточно длительных отведений (до полутора часов). Этот факт, с учетом отсутствия в использованном внутриклеточном растворе АТФ, позволяет исключить возможность участия «быстрого» компонента BK-тока в механизмах генерации высокочастотной тонической импульсации ГКС. Кроме того, изменение концентрации кальция во внеклеточном растворе и блокирование потенциалуправляемых кальциевых каналов хлоридом кадмия не приводили к достоверным изменениям частоты тонической импульсации (персональное сообщение К. И. Кузнецова). Согласно литературным данным [13], устранение BK-тока в «высокочастотных» тонических нейронах неокортекса под действием специфических блокаторов вызывало незначительные изменения формы ПД; частота разрядов указанных нейронов при этом не изменялась.

Таким образом, высокочувствительный к ТЭА компонент интегрального калиевого тока играет ключевую роль в обеспечении высокочастотной длительной генерации ПД ГКС взрослых крыс. Фармакологические и кинетические свойства данного тока полностью соответствуют свойствам Kv3.1/Kv3.2-тока в ГКС и центральных нейронах различных животных [4, 5, 8–11]. Полученные результаты указывают на то, что этот компонент интегрального калиевого тока обеспечивается функционированием каналов Kv3.1 и Kv3.2.

К. И. Кузнецов¹, В. Ю. Маслов^{1,2}, С. А. Федуллова^{1,2}, М. С. Веселовский^{1,2}

РОЛЬ ТЕТРАЭТИЛАМОНИЧУТЛИВОГО КОМПОНЕНТА КАЛІЄВОГО СТРУМУ В ГЕНЕРАЦІЇ ВИСОКОЧАСТОТНОЇ ТОНІЧНОЇ ІМПУЛЬСАЦІЇ ГАНГЛІОЗНИМИ КЛІТИНАМИ СІТКІВКИ ЦУРА

¹ Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, Київ (Україна).

² Міжнародний центр молекулярної фізіології НАН України, Київ (Україна).

Резюме

З використанням методу фіксації потенціалу/струму в конфігурації «ціла клітина» було досліджено роль високочут-

ливого до тетраетиламонію (ТЕА) компонента інтегрально-го калієвого струму у формуванні високочастотної тонічної імпульсації, генерованої гангліозними клітинами сітківки (ГКС) щура. Аплікація 0.5 мМ ТЕА призводила до зниження частоти викликаної тонічної імпульсації ГКС на 63 % (від $55 \pm 10 \text{ c}^{-1}$ у контролі до $26 \pm 5 \text{ c}^{-1}$ у присутності блокатора; $n = 11$). Тривалість окремого потенціалу дії в даному випадку на рівні напівамплітуди збільшувалася на 64 % (від 1.1 ± 0.1 до $1.8 \pm 0.1 \text{ мс}$; $n = 11$), швидкість реполяризації знижувалася на 54 % (від -101 ± 9 до $-46 \pm 5 \text{ мВ/мс}$; $n = 11$), а амплітуда слідової гіперполяризації – на 62 % (від -16 ± 2 до $-6 \pm 2 \text{ мВ}$; $n = 11$). Під впливом 0.5 мМ ТЕА амплітуда інтегрального калієвого струму в ГКС зменшувалася; при цьому чутливий до блокатора компонент струму дорівнював $0.41 \pm 0.05 \text{ нА}$ ($n = 6$; значення в контролі складало $1.62 \pm 0.14 \text{ нА}$; $n = 12$). Таким чином, помірне (у середньому на 25 %) зниження амплітуди калієвого струму істотно впливало на характеристики імпульсної активності ГКС. ТЕА-чутливий компонент струму був подібним до описаного в літературі калієвого струму Kv3.1/Kv3.2. Отримані дані вказують на ключову роль високочутливого до ТЕА компонента калієвого струму (вірогідно, того, що йде через канали Kv3.1/Kv3.2) у генерації високочастотної тонічної імпульсації ГКС.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. J. Henne and G. Jeserich, "Maturation of spiking activity in trout retinal ganglion cells coincides with upregulation of Kv3.1- and BK-related potassium channels," *J. Neurosci. Res.*, **75**, No. 1, 44-54 (2004).
2. B. J. O'Brien, T. Isayama, R. Richardson, and D. M. Berson, "Intrinsic physiological properties of cat retinal ganglion cells," *J. Physiol.*, **538**, No. 3, 787-802 (2002).
3. G. Y. Wang, G. Ratto, S. Bisti, and L. M. Chalupa, "Functional development of intrinsic properties in ganglion cells of the mammalian retina," *J. Neurophysiol.*, **78**, No. 6, 2895-2903 (1997).
4. B. Rudy, A. Chow, D. Lau, et al., "Contributions of Kv3 channels to neuronal excitability," *Ann. New York Acad. Sci.*, **868**, 304-343 (1999).
5. B. Rudy and C. J. McBain, "Kv3 channels: voltage-gated K⁺ channels designed for high-frequency repetitive firing," *Trends Neurosci.*, **24**, No. 9, 517-526 (2001).
6. W. A. Coetzee, Y. Amarillo, J. Chiu, et al., "Molecular diversity of K⁺ channels," *Ann. New York Acad. Sci.*, **868**, 233-285 (1999).
7. G. A. Gutman, K. G. Chandy, S. Grissmer, et al., "International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels," *Pharmacol. Rev.*, **57**, No. 4, 473-508 (2005).
8. M. L. Dallas, L. Atkinson, C. J. Milligan, et al., "Localization and function of the Kv3.1b subunit in the rat medulla oblongata: focus on the nucleus tractus solitarius," *J. Physiol.*, **562**, No. 3, 655-672 (2005).
9. A. Erisir, D. Lau, B. Rudy, and C. S. Leonard, "Function of specific K⁽⁺⁾ channels in sustained high-frequency firing of fast-spiking neocortical interneurons," *J. Neurophysiol.*, **82**, No. 5, 2476-2489 (1999).
10. C. C. Lien and P. Jonas, "Kv3 potassium conductance is necessary and kinetically optimized for high-frequency action potential generation in hippocampal interneurons," *J. Neurosci.*, **23**, No. 6, 2058-2068 (2003).
11. M. Martina, A. E. Metz, and B. P. Bean, "Voltage-dependent potassium currents during fast spikes of rat cerebellar Purkinje neurons: inhibition by BDS-I toxin," *J. Neurophysiol.*, **97**, No. 1, 563-571 (2007).
12. M. Prakriya and C. J. Lingle, "Activation of BK channels in rat chromaffin cells requires summation of Ca⁽²⁺⁾ influx from multiple Ca⁽²⁺⁾ channels," *J. Neurophysiol.*, **84**, No. 3, 1123-1135 (2000).
13. T. Rothe, R. Juttner, R. Bähring, and R. Grantyn, "Ion conductances related to development of repetitive firing in mouse retinal ganglion neurons *in situ*," *J. Neurobiol.*, **38**, No. 2, 191-206 (1999).