ӘОК 612.8.04

Қ.Ә. Сейтқадыр[1], В.П. Зинченко[2], С.Т. Тулеуханов[1]
[1]Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.
[2]РҒА Клетка биофизикасы институты, Ресей, Пущино қ.

КУЛЬТУРАДАҒЫ НЕЙРОНДАРДЫҢ СПОНТАНДЫ СИНХРОНДЫ БЕЛСЕНДІЛІГІ(ССБ) РИТМОГЕНЕЗІНДЕГІ ЦИКЛДЫҚ НУКЛЕОТИДТЕРМЕН БАСҚАРЫЛАТЫН(HCN) КАНАЛДАРДЫҢ РОЛІН ЗЕРТТЕУ

Аталған мақалада культурадағы нейрондардың спонтанды синхронды белсенділігі (ССБ) ритмогенезінде циклдық нуклеотидтермен басқарылатын гиперполяризациялық-белсенденуші (HCN) каналдардың ролін зерттеу бойынша жүргізілген жұмыстардың нәтижелері келтірілген. Гиперқозу кезіндегі неврологиялық процесстердің механизмін анықтау және нейропатологиялық процесстерді болдырмау жолындағы мәселелерді шешу қажеттілігі аталған тақырыптың өзектілігін анықтайды. Аталған жұмыстың мақсатынейрондық желілердегі ССБ жиілігінің артуы жеке нейрондардағы кальций иондарының цитозолдағы концентрациясының($[Ca^{2+}]_i$)базалдық деңгейінің өсуіне және артынша олардың өліміне алып келетінін, ал HCN каналдарының ингибиторлары импульс ұзақтығын азайтып, нейрондарды өлімнен сақтайтындығын көрсету болып табылады. Конфокальді сканерлеуші микроскопия және пэтч-кламп әдістері қолданылды. Тәжірибелік мәліметтерді өңдеу үшін мәліметтерді өңдеудің стандарттық әдістері қолданылды. HCN каналдарының спонтанды синхронды белсенділік (ССБ) ритмогенезінде және нейрондардың бекетаралық белсенділігі кезінде әрекет потенциалының жиілігі мен амплитудасының реттелуінде жетекші роль ойнайтындығы көрсетілген. Деполяризация жылдамдығы мен деңгейін арттыра отырып каналдар қоздырушы әсерге ие болып табылады. Каналдардың ингибиторлары Ca^{2+} импульсінің ұзақтығын азайтады және нейрондар желісіндегі гиперқозуды бәсеңдетеді. Нейрондардың электрлік сигналдарының баяу деполяризация импульстарымен кодталу механизмі анықталған.
Түйінді сөздер: *HCN каналдар, спонтанды синхронды белсенділік,ритмогенез, гиппокамп, гиперқозу*

Кіріспе. Нейрондық желілердің гиперқозуы көптеген нейродегенеративтік аурулар, инсульт және эпилепсия кездеріндегі нейрондардың зақымдалуы мен өліміне себеп болуы мүмкін. Гиперқозу жоғары жиілікті бекетаралық белсенділік режимінің және кальций иондарының синхронды тербелістерінің пайда болуымен, яғни деполяризациямен қатар жүреді. Бекетаралық белсенділік параметрлері Ca^{2+} импульсінің ұзақтығын анықтайды және сондықтан да нейрондардың гиперқозуға төзімділігі үшін айтарлықтай маңызды. Гиперқозу кезіндегі неврологиялық процесстердің механизмін анықтау және нейропатологиялық процесстерді болдырмау жолындағы мәселелерді шешу қажеттілігі аталған тақырыптың өзектілігін анықтайды [1].

Орталық жүйке жүйесінің (ОЖЖ) нейрондары культурада даму кезінде көптеген синаптикалық байланыстар түзеді және нейрондық желіні қалыптастырады. Онда әрекет потенциалы (ӘП) және Ca^{2+} бумаларының спонтанды синхронды белсенділігі пайда болады. Бұл бүлкілдердің жиілігі 0-ден 3 Гц дейінгі аралықта созылып жатады. Әдетте бұл тербелістердің жиілігі 0,05Гц аспайды. Әртүрлі қоздырушы әсерлер ССБ жиілігін 0,2 Гц және одан да жоғары деңгейге дейін арттырады [2]. Сонымен қоса ССБ жоғары жиілігінің нейротоксикалылығы мәселесі туындайды. Нейрондар цитозольден Ca^{2+} тартып шығару жылдамдығына қарай ерекшеленеді. Ca^{2+} баяу тартып шығарылатын нейрондарда ССБ жиілігі артқан жағдайда Ca^{2+} базалдық деңгейінің өсуі және Ca^{2+} жаппай артуы байқалады және соның салдарынан нәтижесінде жасушалар өліміне алып келетін процесстер индукцияланады [3]. ССБ кезіндегі бұл нейрондардағы Ca^{2+} сигналдарын талдау мұндай жасушалардың Ca^{2+}-тасымалдаушы жүйелері Ca^{2+} импульстары аралықтарындағы уақытта Ca^{2+} базалдық деңгейге дейін тартып алуға үлгермейді, бұл жасушаішілік жүйелердің кальцимен шектен тыс толтырылуына және жасушалар өлімі процесстерінің белсенденуіне алып келеді [4]. Басқа қырынан қарасақ, ССБ кезіндегі нейрондардағы Ca^{2+} импульсінің ұзақтығы әртүрлі және 15-20 сек дейін жетуі мүмкін. Ca^{2+} импульсінің ұзақтығы Ca^{2+} каналдарының десенситизация дәрежесіне және ӘП бумасының ұзақтығына байланысты. Ал буманың ұзақтығы өз кезегінде HCN-каналдар мен Т-типті потенциал тәуелді (ПТ) Ca^{2+}каналдарының белсенділігімен реттеледі.

Кальций иондарының цитозолдағы концентрациясыныңжоғарылауы өткізгіштігі жоғары Ca^{2+}каналдарының ашылуының арқасында өте жылдам жүзеге асады. $[Ca^{2+}]_i$ төмендеуі әртүрлі Ca^{2+} помпалары мен алмастырғыштардың тартып шығаруының арқасында біршама баяу жүреді. Осылайша, импульстер арасындағы уақыт ішінде Ca^{2+} тартып шығару жылдамдығы Ca^{2+}-дің базалдық деңгейге дейін толығымен тартылып шығарылуы жүзеге асатын ССБ кезіндегі Ca^{2+} импульстерінің шектік жиілігін анықтайтын басты параметр болып табылады. ССБ шекті мөлшерінен асқанда жасушалар импульстер аралығында Ca^{2+}-ді тартып шығаруға үлгермейді және оларда $[Ca^{2+}]$i-дің жаппай өсуі байқалады, бұл өлу процесстерін индукциялайды [5].

Гиперполяризация арқылы катиондық селективті емес каналдардың (HCN) белсенденуі нейронның пейсмекерлік белсенділігі үшін қажетті деполяризациялаушы токты (Ih) индукциялайды. Каналдардың белсенденуі гиперполяризация 45-60 mV аралығында болғанда жоғарылайды және 110 мV кезінде максималды деңгейіне жетеді. HCN-канал ашылады [6]. cAMP ССБ кезінде нейрондардағы Ca^{2+}жиілігін арттырады. Гиппокамп нейрондардарындағы cAMP жоғарылауы тета-ритм жиілігін арттырады [7] немесе оны индукциялайды [8]. HCN-каналдар GABA-ергиялық нейрондар популяцияларында, соның ішінде парвальбуминді интернейрондар субпопуляциясында экспрессияланған. Каналдар тәуелді cAMP синтезінің Ca^{2+} импульстері арқылы күшейтіледі[9]. Осылайша, қайталама Ca^{2+}-жабыспалары әдетте HCN каналдарының баяу белсенденуін тудырады. cAMP-тәуелді, гиперполяризация арқылы белсенденетін, селективті емес катиондық каналдар **(**HCN) жасушаны гиперполяризациядан кейін табалдырық мәніне дейін деполяризациялайды, сол арқылы кезекті әрекет потенциалын индукциялайды және сол себепті нейрондық белсенділік модуляциясында маңызды роль ойнайды [10]. Ca^{2+} иондары периодтық жабыспалары кезіндегі cAMP синтезінің күшеюі арқылы HCN каналдарын белсендендіреді [9]. Gi-ақуыздарымен түйіндес рецептор агонистары (соматостатин-2А рецепторлар) арқылы cAMP деңгейінің төмендеуіимпульстік белсенділік пен тета-ритмді бәсеңдетті [11], бұл Gi-ақуыздарымен түйіндес рецепторлардың белсенденуі кезіндегі гиперқозудан нейрондарды қорғаудың механизмдерінің бірі болуы мүмкін.

HCN-каналдарының ингибиторы ZD7288 синаптикалық трансмиссияны бәсеңдете отырып, эпилепсия кезіндегі гиперқозуды азайтады. ZD7288 бұғаттаушы әсері каналдың ашық болуын талап етеді және препарат канал жабылғаннан кейін тұзақ ішінде қалады. ZD7288 концентрациясының артуы кезінде нейрондардағы Na^+ каналдарын да бұғаттайды [12]. ZD7288 сондай-ақ Т-типті Ca^{2+} каналдарын да бұғаттай алады[13].

HCN каналдары екіншілік месенджерлердің тікелей әсері арқылы сигналдық трансдукцияның әртүрлі қаңқаларының нысаны болып табылады [6, 12, 13]. Ca^{2+} - cAMP – тәуелді HCN каналдар негізінен альбуминді нейрондардың ГАМК-ергиялық жұптардыңжылдам фракцияларында орналасқан. Болжамдарға сәйкес, Gi-ақуыздарымен түйіндес рецептор агонистері, PI3-киназа ингибиторлары немесе HCN каналдарының ингибиторларының әсері кезінде ССБ-гі Ca^{2+} импульсінің ұзақтығы төмендейтін болады, бұл Ca^{2+} біршама толық тартылып шығарылуына алып келеді және $[Ca^{2+}]_i$ жаппай өсуіне кедергі келтіреді және жасушаларды өлімнен сақтап қалады [14].

ССБ жиілігі жоғары болатын тәжірибелерде ГАМК-ергиялық нейрондардың жеке популяцияларының жиілігі барынша аз болатындығын көрсетті. Бұл нейрондар қозғыштығының жоғарылығымен, глутамат пен каинатты және AMPA рецепторларының агонистары көмегімен белсендену кезінде десенситизациясыз Ca^{2+} импульстерін генерациялауға қабілеттілігімен ерекшеленді [15]. Алайда импульстерін десенситизациясыз генерациялау қабілеті оларды гиперқозуға төзімсіз етті (ұзақ мерзімді гиперқозу олардың селективті өліміне әкеліп соқты). Тежегіш нейрондарды гиперқозудан қорғау әдістерін іздестіру Ca^{2+}импульстерінің

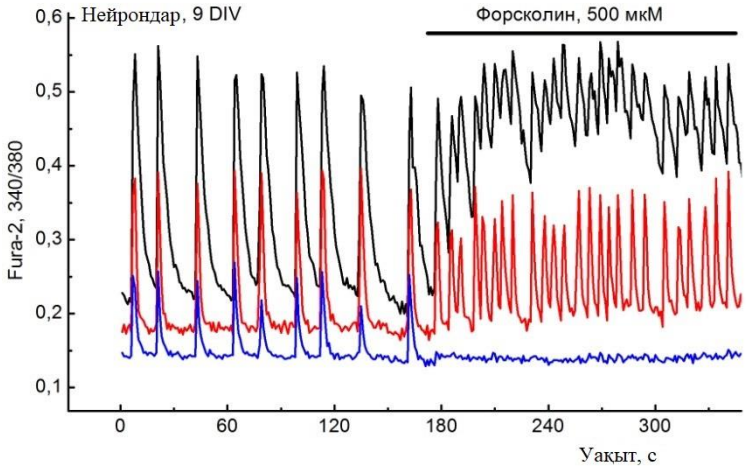
ұзақтығын қысқартатын қосылыстардың бірқатары, соның ішінде HCN каналдары мен Т-типті кальций каналдарының ингибиторларының, альфа2 адренорецепторларының агонистары, фосфолипаза өнімі А2 арахидон қышқылы, AMPA рецепторлары десенситизациясының реттеушілері нейрондық желілердегі гиперқозуды тежегендігі немесе тоқтатқандығын көрсетті[16].

Материалдар мен әдістер.

Гиппокамп жасушаларының культураларын алу бойынша жұмыстар культивирлеу мерзімдері әртүрлі гиппокамп нейрондары мен астроциттерінің аралас культураларында[17-19] сәйкес жүзеге асырылды. Аралас нейроглиальді жасуша культураларын Sprague Dawley тұқымына жататын жаңадан туылған (P1-3) сызықтық егеуқұйрықтардың гиппокампынан алынды. Декапитациядан кейін гиппокампты шығарып алып, Хенкстің суық ерітіндісіне ауыстырылды, ұсақталып, 0,2% трипсин қосылған Версен ерітіндісіне салынды және 37°С температурада 10 мин бойында 600 айналым\мин жылдамдықтағы термошейкерде инкубирленді. Тәжірибелерде сонымен қатар пэтч-кламп және конфокальді микроскопия әдістері де қолданылды. Потенциалды жергілікті тіркеу әдісі, пэтч-кламп – иондық каналдардың қасиеттерін зерттеуге арналған электрофизиологиялық әдістеме, оның мәнісі жасуша мембранасының бөлшегі арнайы микропипетка көмегімен оқшауланыуында болып табылады. Бұл әдістеме тәжірибе жасаушыға мембрана тараптары арасындағы потенциалдың алуан түрлілігін бақылауға, сондай-ақ оны белгілі бір химиялық құрамымен ерекшеленетін ортаға орналастыруға мүмкіндік береді. Осындай жақсы бақылауда ұсталатын жағдайларда мембрана арқылы өтетін иондық токтар өлшенеді, бұл тәжірибе соңында иондық каналдардың электрлік және химиялық әсерлерге қалай жауап беретіндігі туралы қорытынды жасауға мүмкіндік береді. Әдістің сезімталдығы соншалық, мембранамен әрекеттесетін жеке молекулалардың әрекеті мен химиялық өзгерістерін бақылауға мүмкіндік береді [20]. Оптималды түрде иондық каналдардың сипаттамасын өлшеуге мүмкіндік беретін тәжірибелік хаттамалар да жасалынған. Аталған әдістемені ойлап тапқан неміс зерттеушілері Эрвин Неер мен Берт Сакман 1991 жылы Нобель сыйлығын алды. Тәжірибені жүзеге асыру үшін қолданылған екінші бір әдіс – конфокальді микроскопия. Конфокальді микроскопия (конфокальді лазерлікскaнерлеуші микроскопия, КЛСМ)— жарықтық оптикалық микроскопияның бір түрі, ол классикалық жарық микроскопиясымен салыстырғанда айтарлықтай қанықтылық пен кеңістіктік мүмкіндіктерге ие, мұндай мүмкіндіктерге кескін беткейінде орналастырылған және объективтің фокальді емес беткейінен шағылатын фондық шашыраңқы сәуленің ағынын шектейтін нүктелік диафрагманы (пинхол) қолдану арқылы қол жеткізіледі [21].Конфокальді микроскопта уақыттың әрбір сәтінде нысанның бір тогының тіркелуі жүзеге асады. Толыққанды кескін үлгінің қозғалысын сканерлеу немесе оптикалық жүйені қайта құру арқасында алынады. Объективті линзадан кейін зерттелетін нүктеден шығарылатын сәуле ол арқылы оңай өтетіндей және тіркелетіндей, ал басқа нүктелерден шағылатын сәуле диафрагма арқылы ұсталып тұратындай өте кішкендай өлшемді диафрагма орналасқан. Сипатталған әдіс әртүрлі жасушалардың ішкі құрылымын зерттеуге мүмкіндік береді.Оның көмегімен жасушаның жеке молекулалары мен құрылымдарын, микроорганизмдерді, сондай-ақ жасушада жүретін динамикалық процесстерді анықтауға болады [21].

Графиктер тұрғызу және статистикалық өңдеу үшін Origin 9.1 қолданылды. Нәтижелер көз жетер аймақтағы N жасушаларының орташа сигналы ± қалыпты ауытқу (N ± SD) түрінде, немесе жасушалардың басым бөлігінің Ca^{2+} типтік жауабы түрінде, не болмаса жеке нейронның жауап реакциясы түрінде келтірілген. Мәліметтер статистикалық тұрғыда бірфакторлы дисперсионды ANOVA сараптамасын қолдана отырып, және Student-Newman-Keuls маңызды айырмашылықтар сынамасын қолдана отырып салыстырылды, немесе Стьюденттің жұптық критериі қолданылды, $p \leq 0.05$ кезіндегі айырмашылықтар сенімді деп есептелді. Барлық мәліметтер кем дегенде 3 бөлек жабын шынысынан және 2-3 тәуелсіз бөліп алынған жасушалардан алынды.

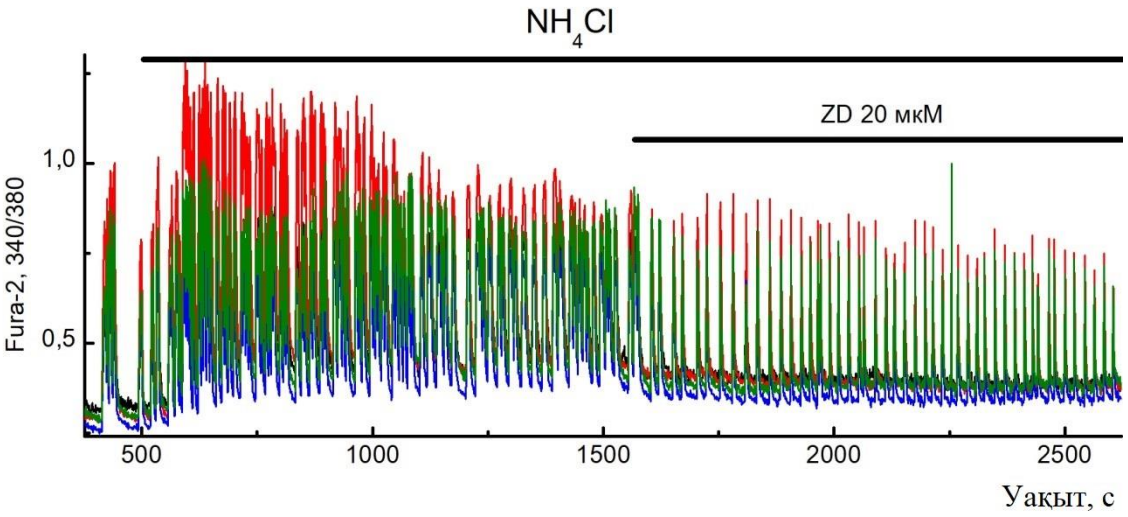
Нәтижелер және оларды талқылау.Бізкультурадағы нейрондардың спонтанды синхронды белсенділігі (ССБ) ритмогенезінде циклдық нуклеотидтермен басқарылатын гиперполяризациялық-белсенденуші (HCN) каналдардың ролін зерттеу бойынша тәжірибелік жұмыстар жүргіздік. Нейрондық желідегі ССБ жиілігінің артуы жеке нейрондардағы $[Ca^{2+}]_i$ базалдық деңгейінің өсуіне және олардың өліміне алып келетіндігі, ал HCN каналдарының ингибиторлары импульс ұзақтығын азайтатындығы және нейрондарды өлімнен сақтайтындығы көрсетілген. 1 суретте форсколин көмегімен cAMP жоғарылатылуы гиппокамп жасушалары культурасы нейрондарындағы Ca^{2+} ССБ жиілігін (HCN каналдары белсенденуі есебінен) жоғарылататындығы көрсетілген. Сонымен қоса, егер төменгі жиілік кезінде баяу-тартып шығарылатын нейрон $[Ca^{2+}]_i$ базалдық деңгейін төмендетуге үлгеретін болса, жоғары жиілікте Ca^{2+}-ді баяу тартып шығаратын нейрондарда $[Ca^{2+}]_i$ деңгейі күрт жоғарылайды да, нәтижесінде олардың селективті өліміне алып келеді. Ca^{2+}-ді біршама жылдам тартып шығаратын нейрондарда базалдық деңгей жоғарыламайды (1 сурет).



Сурет 1 – Форсколин көмегімен cAMPдеңгейін арттыру ССБ жиілігін жоғарылатады. Ca^{2+}-ді баяу тартып шығаратын нейрондарда $[Ca^{2+}]_i$ базалдық деңгейінің артатындығы көрсетілген. Төменгі жиілікте баяу тартып шығарғыш нейрон $[Ca^{2+}]_i$-ді базалдық деңгейге дейін төмендетіп үлгереді

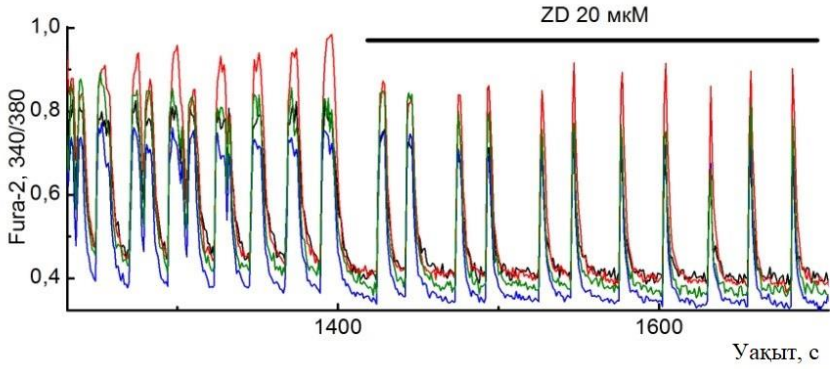
Аммиактың нейротоксикалық дозасы ССБ жиілігін арттыра отырып желідегі нейрондардың гиперқозуына алып келеді. Сонымен қоса жасушалардың бір бөлігінде $[Ca^{2+}]_i$ деңгейінің жаппай өсуі және келесіде олардың өлімі байқалады. 2 суретте ССБ жиілігі артқан кезде гиппокамп нейрондарының басым көпшілігі импульстер аралығындағы кезеңде Ca^{2+}-ді тартып шығаруға үлгермейді және жасушалардағы $[Ca^{2+}]_i$-дің базалдық деңгейі жоғарылайды. Катиондық каналдарының ингибиторы, ZD7288, Ca^{2+}-ді біршама тереңінен тартып шығара алу қабілетінің арқасында Ca^{2+} базалдық деңгейін төмендетеді және импульс ұзақтығын 3 есеге дейін азайтады. 2 суретте ZD7288 қатысындағы импульстер ұзақтығының азаю динамикасы көрсетілген. Импульстер өзгеруінің

жартылай ені және алдыңғы фронттың ұзақтығы ингибитор қатысында сәйкесінше 10 және 6,5 с-тан 3 және 2 с дейін азайды (2 сурет).

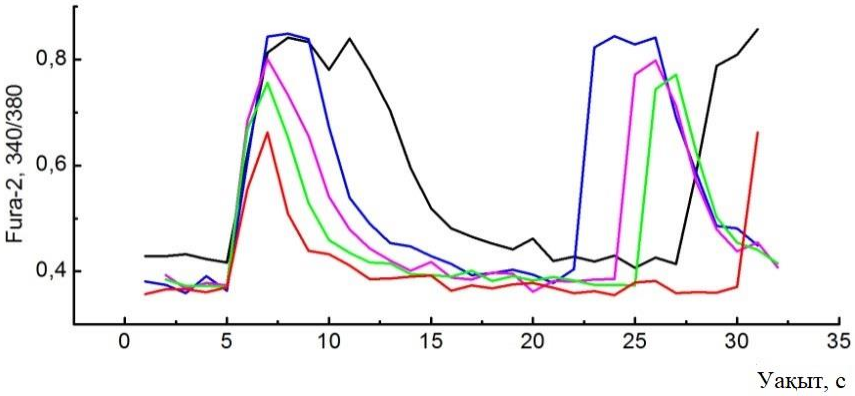


Сурет 2 – NH4Cl (8mM) ССБ жиілігін арттырады, нейрондар импульстер аралығындағы кезеңде Ca^{2+}тартып шығаруға үлгермейді. $[Ca^{2+}]_i$ базалдық деңгейі артады. 20мкМ ZD7288Ca^{2+}-ді біршама терең тартып шығару қабілетінің арқасында Ca^{2+} импульстері ұзақтығын азайтады, $[Ca^{2+}]_i$базалдық деңгейінің азаюын туындатады

Импульстер амплитудасы қатты өзгермейтіндігі көрсетілген, бұл ингибитордың мұндай концентрацияда селективті әсер ететіндігін білдіреді (2 сурет).



А



Сурет 3 – А: уменьшение длительности Ca^{2+} импульсі ұзақтығын азаюы, Ә:қара қисық сызық – ZD7288 қосар алдындағы Ca^{2+} импульсі, қалған қисық сызықтар – ингибиторды қосқаннан кейін

Суреттің 3 А жазба бөлігі Ca^{2+} импульсі ұзақтығының азаюын көрсетеді. Көрініп тұрғанындай, нейрондардың басым көпшілігінде амплитуда көп өзгеріске ұшырамайды (Na+ каналының ингибирлену әсері байқалмайды), жиілік те айтарлықтай азаймайды (бұл ССБ кезіндегі бумааралық интервал реттелуінде HCN каналының қатысатындығын көрсетеді). 3 Ә суретте нейрондардың бірінің Ca^{2+} импульсі келтірілген. Импульс ұзақтығының біртіндеп азаюы көрсетілген (3 А, Ә суреттер).

Осылайша, ССБ жиілігі жоғары болғанда HCN каналдарының ингибиторы ZD7288Ca^{2+} импульсінің ұзақтығын азайтады, $[Ca^{2+}]_i$ базалдық деңгейін төмендетеді және жасушалардағы $[Ca^{2+}]_i$ деңгейінің жаппай артуына кедергі келтіреді және жасушалар өлімінің алдын алады.

Қорытынды.Осылайша, аталған жұмыстанейрондардың бумалық белсенділігі кезіндегі әрекет потенциалының (ӘП) жиілігі мен амплитудасының реттелуі кезіндегі культурадағы нейрондардың спонтанды синхронды белсенділігі (ССБ) ритмогенезінде және циклдық нуклеотидтермен басқарылатын гиперполяризациялық-белсенденуші HCN каналдардың жетекші ролі көрсетілген. Нейрондық желідегі ССБ жиілігінің артуы жеке нейрондардағы $[Ca^{2+}]_i$базалдық деңгейінің артуына және келесіде жасушалардың

өліміне алып келетіндігі анықталды. Катиондық HCN каналдарының ингибиторы, ZD7228, Ca^{2+} импульсінің ұзақтығын қысқартады және спонтанды синхронды белсенділіктің жоғары жиілігінде Ca^{2+}-ді біршама терең тартып шығару қабілетінің арқасында нейрондарды өлімнен сақтап қалады. Алынған нәтижелердің негізінде гиперқозу күйін болдырмау үшін эндогенді қорғаныс сигналдық жолдарын белсендендіру мақсатында оңай қоздырылатын нейрондар популяциясының функционалдық күйін басқарудың жаңа әдістерін жасап шығару қарастырылуда.

ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1 Буриков А. А. Организация неспецифической таламо-кортикальной системы во сне и бодрствовании: Автореф. дис. на соискание ученой степени д-ра биолог. наук.-Л., 1985.- 44 с.
2 Камкин А. Г., Киселева И. С., Кирищук С. И., Лозинский И. Т. Потенциал-управляемые кальциевые каналы (Часть II)// Успехи физиол. наук.-2007.-Т. 38,№1.-С. 14-38
3 Теплов И.Ю., Тулеуханов С.Т., Зинченко В.П. Регуляция частоты и амплитуды потенциалов действия Ca^{2+}-каналами Т-типа при спонтанной синхронной активности нейронов гиппокампа. БИОФИЗИКА, 2018, том 63, вып. 4, с. 722–733
4 LeeKH,McCormickDA. Neuron.1996Aug;17(2):309-21.
5 Туровская М. В., Туровский Е. А., Кононов А. В., Зинченко В. П. 2013. Биол. мембраны. 30 (5–6), 479–490.
6 Теплов И.Ю.,Долгачева Л.П.ТулеухановС.Т., Зинченко В.П. Регуляция частоты и амплитуды потенциалов действияCa^{2+}-каналами Т-типа в нейронах гиппокампа. В сб. статей XIII Международной научной конференции«Актуальные вопросы биологической физики и химии. БФФХ 2018», Севастополь, СГУ, 17-21 сент 2018 г.
7 Zinchenko V.P., Gaidin S.G., Teplov I.Y., and Kosenkov A.M. 2017. Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, 11(4), 261–274.
8 Lüthi A, McCormick DA. Neuron.1998b;20:553–563.
9 KocsisB,LiS. Eur J Neurosci.2004Oct;20(8):2149-58.
10 FitchTE,Sahr RN,Eastwood BJ,Zhou FC,Yang CR.. J Neurophysiol. 2006 May;95(5):2808-20. Epub 2006 Feb 1.
11 Yue BW, Huguenard JR. Thalamus & related systems. 2001;1(2):95-103. doi:10.1016/S1472-9288(01)00009-7
12 Luthi A & McCormick DA (1998a). Neuron 21, 9–12.
13 Bassant MH, Simon A, Poindessous-Jazat F, Csaba Z, Epelbaum J &Dournaud P (2005). J Neurosci25, 2032–2041.
14 Xing Wu,Liping Liao,Xiangming Liu,Fang Luo,Tianming Yang,andChenhong LiChannels (Austin). 2012 Nov 1; 6(6): 438–442.
15 Zinchenko V. P., Gaidin S. G., Teplov I. Y., Kosenkov A. M., Turovsky E.A., Tuleukhanov S.T.Identification, properties and function of GABAergic neurons comprising calcium-permeable, KA- or AMPA-receptors in hippocampal culture. 2018, FrontiersinSynapticNeuroscience.
16 Зинченко В.П., Гайдин С.Г., Теплов И.Ю., Косенков А.М. Торможение спонтанной синхронной активности нейронов гиппокампа возбуждением гамкергических нейронов// Биологические мембраны.-Москва, 2017.-Т.4.-№4.-с.261-274.
17 Dynnik V.V., Kononov A.V., Sergeev A.V., Tankanag A.,Zinchenko V.P. To break or to brake neuronalnetwork accelerated by ammonium ions?// PLoS One.10 (7), e0134145.30. 2015
18 Turovskaya M.V., Turovsky E.A., Kononov A.V.,Zinchenko V.P. Short-term hypoxia induces a se-lective death of GABAergic neurons. Biochem. (Moscow)Suppl. Series A: Membr. Cell Biol. 2014. 8 (1), 125–135
19 Zinchenko V.P., Gaidin S., TeplovI.Yu. andoth. Visualization, Properties, and Functions of GABAergic Hippocampal Neurons Containing Calcium-Permeable Kainate and AMPA Receptors //Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology, 2020, Vol. 14, No. 1, pp. 44–53.
20 O. P. Hamill, A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, and F. J. Sigworth. Improved Patch-Clamp Techniques for High-Resolution Current Recording from Cells and Cell-Free Membrane Patches. // Pfluegers Arch (1981)391:85-100
21 Handbook of Biological Confocal Microscopy/ J.B. Pawley.— 3rd ed.— Berlin: Springer, 2006.— 985p.—ISBN 0-387-25921-X.— DOI:10.1007/978-0-387-45524-2.

Қ.Ә. Сейтқадыр[1], В.П. Зинченко[2], С.Т. Тулеуханов[1]

[1]Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г.Алматы, Казахстан

[2]Институт биофизики клетки РАН, г.Пущино, РФ

ИССЛЕДОВАНИЕ РОЛИКАНАЛОВ, УПРАВЛЯЕМЫХ ЦИКЛИЧЕСКИМИ НУКЛЕОТИДАМИ (HCN) В РИТМОГЕНЕЗЕ ССА НЕЙРОНОВ В КУЛЬТУРЕ

Резюме: В данной статье приведены результаты работ по изучению роли гиперполяризацией-активируемых каналов, управляемых циклическими нуклеотидами (HCN) в ритмогенезе спонтанной синхронной активности (ССА) нейронов в культуре. Необходимость выявления механизма неврологических процессов при гипервозбуждении и способов решения задач по устранению нейропатологических процессов определяет актуальность данной тематики. Цель данной работы заключается в том, чтобы показать, что увеличение частоты ССА в нейрональной сети приводит к росту базального уровня $[Ca^{2+}]_i$ (глобальному росту $[Ca^{2+}]_i$) в отдельных нейронах и последующей их гибели, а ингибиторы HCN каналов уменьшают длительность импульса и спасают нейроны от гибели. Использованы методы конфокальной сканирующей микроскопии и метод петч-клампа. Для обработки экспериментальных данных применены стандартные методы обработки данных. Показана ведущая роль HCN каналов в ритмогенезе спонтанной синхронной активности (ССА) и регуляции частоты и амплитуды потенциалов действия (ПД) при пачечной активности нейронов. Увеличивая скорость и уровень деполяризации, каналы обладают возбуждающим действием. Ингибиторы каналовуменьшают длительности Ca^{2+} импульса и подавляют гипервозбуждение в нейрональной сети. Выявлен механизм кодирования электрических сигналов нейронов импульсами медленной деполяризации.

Ключевые слова: HCN каналы,спонтанная синхронная активность, ритмогенез, гиппокамп, гипервозбуждение

K.A. Seitkadyr[1], V.P. Zinchenko[2], S.T. Tuleukhanov[1]
[1]Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
[2] Institute of cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences,Pushchino, Russia

INVESTIGATION OF THE ROLE OF CHANNELS CONTROLLED BY CYCLIC NUCLEOTIDES (HCN) IN THE RHYTHMOGENESIS OF CCA NEURONS IN CULTURE

Resume: This article presents the results of studies on the role of hyperpolarization-activated channels controlled by cyclic nucleotides (HCN) in the rhythmogenesis of spontaneous synchronous activity (PAS) of neurons in culture. Necessity of identifying the mechanism of neurological processes in hyperexcitation and ways to solve problems to eliminate neuropathological processes determines the relevance of this topic. The purpose of this work is to show that increasing the frequency of CCA in the neuronal network leads to an increase in the basal level of [Ca2+]i (global growth of [Ca2+]i) in individual neurons and their subsequent death, and HCN channel inhibitors reduce the pulse duration and save neurons from death. Confocal scanning microscopy and the Petch-klamp method were used. Standard data processing methods are used for processing experimental data. The leading role of HCN channels in the rhythmogenesis of spontaneous synchronous activity (PAS) and regulation of the frequency and amplitude of action potentials (PD) in pachytic activity of neurons is shown. Increasing the speed and level of depolarization, the channels have an exciting effect. Channel inhibitors reduce the duration of the Ca2 + pulse and suppress hyperexcitation in the neuronal network. The mechanism of encoding electrical signals of neurons by slow depolarization pulses is revealed.
Keywords: HCN channels, spontaneous synchronous activity, rhythmogenesis, hippocampus, hyperexcitation