

А.О. Москалюк, Ю.О. Колодін, М.О. Кравченко,  
С.А. Федулова, М.С. Веселовський

## Електрофізіологічні властивості гальмівних нейронів у дисоційованій культурі клітин гіпокампа

*Електрофізіологічні властивості гальмівних (ГАМКергічних) нейронів вивчалися на синаптично пов'язаній парі культивованих нейронів гіпокампа з використанням методики patch-clamp в конфігурації "целяя клетка" в режимі парної реєстрації. Наявність моносинаптичних гальмівних викликаних токів на постсинаптичній клітці в відповідь на потенціал дії (ПД) в пресинаптичній клітці слугувало надійним критерієм для ідентифікації останньої як ГАМКергічного інтернейрона. Показано, що за типом електричної активності ГАМКергічні нейрони в дисоційованій культурі гіпокампа можна розділити на дві групи: перша характеризується високочастотною генерацією потенціалів дії в відповідь на стимуляцію імпульсами струму тривалістю 0,5 с, клітини другої групи не здатні до високочастотної генерації ПД. Дві групи клітин відрізнялися між собою за кінетичними характеристиками ПД, адаптационними характеристиками при неперервній генерації ПД і гальмівному ефекту, що надається на постсинаптичну клітку. Локальна аплікація блокатора калієвих каналів 4-амінопіридину на сому нейронів першої групи в концентрації, селективно блокуючій тип калієвих каналів Kv3, викликала оборотні зміни в кінетиці ПД, частоті та адаптационних характеристиках при неперервній генерації ПД. Зроблено висновок про високий рівень експресії Kv3 калієвих каналів в нейронах першої групи.*

### ВСТУП

Останнім часом з'явилася велика кількість даних про величезне розмаїття типів та підтипів гальмівних ГАМКергічних нейронів у центральній нервовій системі ссавців [17,18,23]. Інтернейрони відрізняються за морфологією, електрофізіологічними властивостями [7], експресією кальційзв'язувальних білків і потенціалкерованих калієвих і пресинаптичних кальцієвих каналів [4], а також механізмами, що пресинаптично регулюють гальмівну передачу [20]. Нині є вже дані про гетерогенність ГАМКергічних синаптичних зв'язків у дисоційованій культурі нейронів гіпокампа [24].

За сучасними уявленнями, саме інтернейрони відіграють важливу роль у формуванні специфічних для кори та гіпокампа

ритмів і синхронізують роботу величезної мережі пірамідних нейронів [17]. За електрофізіологічною класифікацією [1, 5], нейрони ЦНС залежно від їх відповіді на тривалу (0,5–1 с) стимуляцію деполяризуючим струмом розподіляють на такі, для яких характерна високочастотна генерація потенціалів дії (ПД) (або fast-spiking, FS), ті, що ритмічно генерують потенціали дії (regular spiking, RS), та ті, які проявляють ендогенну пачкову активність (intrinsically bursting, IB). Вивчення молекулярних механізмів формування типу електричної активності клітини показало, що одну з основних ролей тут відіграють потенціалкеровані калієві канали різних типів, які по-різному експресуються в клітинах та формують її електрофізіологічні властивості [7, 16].

Мета нашого дослідження – вивчення електричних властивостей ГАМКергічних нейронів у дисоційованій культурі клітин гіпокампа та ролі калієвих каналів (Kv3) у формуванні типу їх електричної активності.

## МЕТОДИКА

Культивування нейронів гіпокампа проводили за описаною раніше методикою [8]. Новонароджених щурів лінії Вістар декапітували, виділяли гіпокамп та обробляли його 0,025%-м розчином трипсину протягом 10 хв при 34°C. Після механічної дисоціації за допомогою Пастерівських піпеток клітини висівали на покриті полі-L-орнітином-ламініном чашки Петрі і культивували у середовищі, що складалося із МЕМ, 10% кінської сироватки, 2,3 г/л NaHCO<sub>3</sub>, 6 мг/мл інсуліну, пеніциліну та стрептоміцину. На третю добу культивування 1 мкмоль/л Ага-С додавали на 24 год до культурального середовища для припинення проліферації гліальних клітин. Експерименти проводили на 14–42-гу добу культивування.

Електрофізіологія. Зовнішньоклітинний розчин був такого складу (ммоль/л): NaCl – 140, KCl – 3, CaCl<sub>2</sub> – 2, MgCl<sub>2</sub> – 2, HEPES – 20, глюкоза – 30. Блокатори АМПК та калієвих рецепторів DNQX та НМДА-рецепторів D<sub>L</sub>-AP5 у концентрації 20 мкмоль/л завжди додавали до позаклітинного розчину. Ідентифікацію ГАМКергічного нейрона в культурі проводили за допомогою одночасної реєстрації від двох клітин у конфігурації “ціла клітина”. Обидві піпетки, заповнені розчином (ммоль/л): глюконат калію 100, KCl – 50, EGTA – 10, MgCl<sub>2</sub> – 5, HEPES – 20, NaCl – 5 мали опір 3–10 МОм. Послідовний опір контролювали протягом експерименту і він був не більшим ніж 30 МОм. Експериментальну установку було зібрано на базі інвертованого мікроскопа Axiovert 25 (“Karl Zeiss”, Німеччина) в експерименті використовували 32-й фазо-контрастний об’єктив та 2 підсилювача

ЕРС-8 фірми “НЕКА” (Німеччина). Сигнали оцифровували та записували за допомогою АЦП DigiData 1322A та програмного пакета pClamp 9.0 (“Axon Instruments”, США) з частотою оцифровки 50 кГц.

ГАМКергічний нейрон ідентифікували візуально, а після встановлення електричного контакту – за наявності викликаних моносинаптичних струмів на іншій клітині при його стимуляції або невеликого аутапічного струму. “Великі” аутапічні струми при експериментальних внутрішньо- та позаклітинних концентраціях іонів хлору деполаризують клітину та заважають неперервній генерації ПД у нейроні, тому клітини з таким струмом не досліджували. Після такої надійної ідентифікації ГАМКергічного нейрона в культурі подальші виміри пресинаптичної клітини проводили в режимі фіксації струму. Використовували компенсацію ємності піпетки, таким чином ефективна вхідна ємність підсилювача та піпетки разом становила не більше ніж 4 пФ. Застосовували методику розроблену Erisir і співавт. [7]. Для дослідів брали клітини, які мали потенціал спокою не вищий за –45 мВ. За допомогою зміни підтримуваного струму клітину гіперполяризували приблизно до –70 мВ, щоб позбутися інактивації різних потенціалкерованих каналів [16]. Після цього проводили стимуляцію струмом тривалістю 0,5 с. Спочатку невеликими струмами позитивної та негативної полярності з метою оцінки опору та ємності мембрани. Потім подавали мінімальний надпороговий деполаризуючий струм. Це призводило до виникнення протягом усього стимулу тільки одного ПД, кінетичні характеристики якого потім підраховували. Далі сила деполаризуючого струму підвищувалася з інкрементом у 10–50 пА. Це викликало підвищення частоти генерації ПД. При занадто великих стимулах клітина припиняла генерувати ПД протягом інтервалу в 500 мс.

Аплікацію блокатора 4-амінопіридину здійснювали за методикою швидкої локальної суперфузії [26].

Результати аналізували за допомогою програмного пакета pClamp 9.0 (“Axon Instruments”, США) та програм Origin 7.0 (“OriginLab Corporation”, США), Excel 97 Microsoft Corporation, США та Matlab 6.0. Поріг виникнення ПД визначали як потенціал у той момент, коли друга похідна від сигналу потенціалу сягала трьох значень від свого середньоквадратичного відхилення в час, що передував виникненню ПД. Амплітуду ПД визначали як різницю між піком і порогом. Амплітуду гіперполяризації після ПД рахували як різницю між порогом ПД і мінімумом потенціалу після його піку. Ширину ПД вимірювали на 50% амплітуди. Максимальну швидкість деполяризації та реполяризації знаходили як максимум і мінімум першої похідної від сигналу відповідно. Миттєву частоту генерації ПД вимірювали як обернену величину до інтервалу між ПД. Максимальну стаціонарну частоту генерації ПД обчислювали як максимальну частоту ПД наприкінці стимулу (для знаходження частоти наприкінці стимулу усереднювали миттєві частоти за останні 100 мс стимулу). Ця частота досягалася при максимальних стимулах, ще більші стимули викликали втрату здатності клітини неперервно генерувати ПД протягом 500 мс. За цією самою серією ПД розраховували ще адаптацію за 200 мс ( $A_{200}$ ) за формулою:  $([\text{частота на початку стимулу}] - [\text{частота на 200 мс після початку стимулу}]) / [\text{частота на початку стимулу}]$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ

Було досліджено електрофізіологічні властивості 25 ГАМК-ергічних нейронів. Усі досліджені клітини у відповідь на максимальні стимули генерували регулярну серію ПД із

помітною адаптацією, основна частина якої припадала на перші 100–150 мс. Більшість клітин при певних стимулах могла генерувати не тільки регулярні, але й нерегулярні серії ПД, при яких миттєва частота варіювала в дуже широких межах. Ми підраховували частотні та адаптаційні характеристики тільки за регулярними серіями, отриманими при максимальних стимулах.

Розподіл такої електрофізіологічної характеристики, як максимальна стаціонарна частота генерації ПД, суттєво відрізнявся від нормального (тест Шапіро – Уїлка,  $P < 0,01$ ), що дозволило нам зробити припущення про наявність різних типів ГАМКергічних нейронів у культурі.

Відокремлення різних типів клітин проводилося за трьома показниками: шириною ПД, максимальною стаціонарною частотою генерації ПД, максимальною швидкістю реполяризації (рис. 1).

Результати були кластеризовані на основі нечіткого *c-means* алгоритму [29], за допомогою якого кожному елементу множини ставилася у відповідність ступінь приналежності до кластерів. Елементи

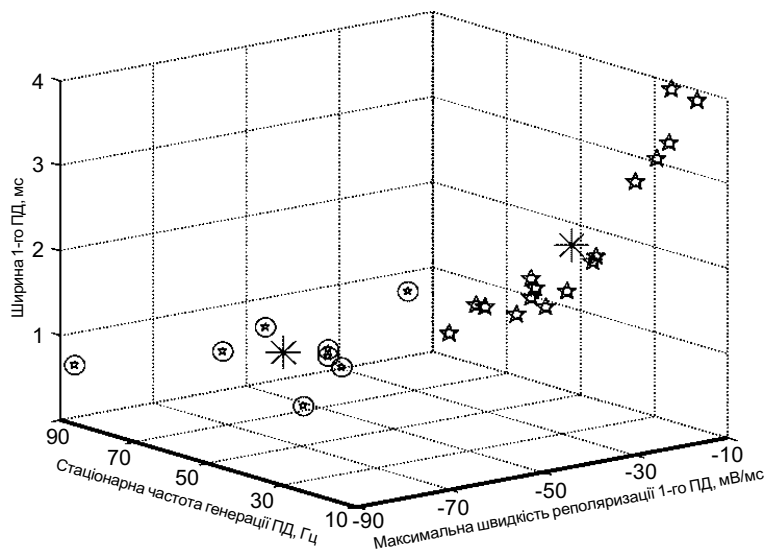


Рис. 1. Результати кластеризації. Елементи першого кластеру позначені п'ятикутними зірочками, елементи другого – кружечками, центри кластерів – зірочками

**Показники потенціалів дії (ПД) та адаптаційні характеристики**

Показник	Нейрони, що генерують потенціали дії	
	ритмічно	високочастотно
Стационарна частота генерації ПД, Гц	23,55±1,65	52,07±5,39
Максимальна швидкість, мВ/мс		
деполяризації	129,82±9,98	174,83±15,60
реполяризації	-37,82±4,13	-72,69±5,51
Ширина ПД, мс	2,23±0,22	1,20±0,09
Ширина 2-го ПД у серії з максимальним стимулом, мс	2,79±0,35	1,43±0,13
Адаптація за 200 мс	0,48±0,03	0,30±0,07
Максимальна швидкість для останнього ПД, мВ/мс		
деполяризації	4,42±0,19	1,91±0,26
реполяризації	-11,73±0,81	-32,96±4,42

За усіма наведеними показниками середні статистично достовірно відмінні за критерієм Стьюдента  $P < 0,05$ .

одного кластеру мали бути настільки близько розташовані один до одного, як це тільки можливо, і, водночас, самі кластери мали бути найбільш віддалені один від одного.

За результатами кластеризації видно, що існують дві групи клітин: одна з порівняно малою частотою генерації ПД, великою шириною ПД і малою максимальною швидкістю реполяризації, інша – з малою шириною, великою частотою та порівняно великою максимальною швидкістю реполяризації. Центри кластеризації мають такі показники:

Стационарна частота генерації ПД, Гц	49,22	22,48
Ширина ПД, мс	1,16	2,36
Максимальна швидкість реполяризації ПД, мВ/мс	-74,53	-33,67

Отже, ми класифікували ці групи за загальною термінологією як RS (18 клітин) та FS (7 клітин). Електрофізіологічні параметри клітин з обох груп приведені у таблиці.

Для амплітуди гіперполяризації після ПД середні для RS (-8,97±1,93) та для FS (-8,90±2,06) достовірно не відрізняються.

На рис. 2 показані відповіді FS і RS нейронів на стимуляцію струмом. Для кожної з клітин це був максимальний струм,

котрий ще не викликав припинення неперервної генерації ПД.

За оцінками коефіцієнтів кореляції між кількістю діб *in vitro* та основними електрофізіологічними показниками клітин залежності не виявлено.

Використовуючи методику швидкої локальної суперфузії ми здійснили аплікацію 4-амінопіридину в концентрації 400 мкмоль/л. Це призводило до зворотних змін кінетичних характеристик і частоти ПД при максимальному стимулі для FS-клітин (n=3).

## ОБГОВОРЕННЯ

Проведені нами дослідження показують, що ГАМКергічні нейрони в культурі гіпокампа можна поділити на дві великі групи, на основі здатності до генерації ПД з великою частотою: FS- і RS-клітини. Беручи до уваги те, що наші експерименти з тривалим впливом струму – це моделювання справжньої фізіологічної поведінки нейрона, можна робити припущення про різні типи фізіологічного гальмівного ефекту, що спостерігається у культурі гіпокампа. Фізіологічна активація FS-клітини (див.рис. 2), призводить до відносно рівномірного протягом стимулу постсинаптичного струму, що,

можливо, за фізіологічних умов спричинив би гіперполяризацію постсинаптичної клітини та її “виключення” із нейронної мережі протягом усього періоду активності FS-клітини. Типові відповіді від RS-клітин не мали цих властивостей.

Порівнюючи наші результати з даними досліджень на зрізах гіпокампа [2, 3, 11–13, 15, 19, 21, 22, 27, 28], можна зробити висновок, що властивості ГАМКергічних клітин у культурі є подібними до власти-

востей інтернейронів гіпокампа та є гетерогенними. Отже, культура є гарною моделлю для вивчення інтернейронів гіпокампа, передусім спільних їх властивостей.

Блокатор калієвих каналів 4-амінопіридин, дія якого в малих концентраціях на гальмівну синаптичну передачу в культивованих нейронах гіпокампа досліджувалася раніше [9,10], у наших експериментах у концентрації, що викликає селективне блокування калієвих каналів, типу

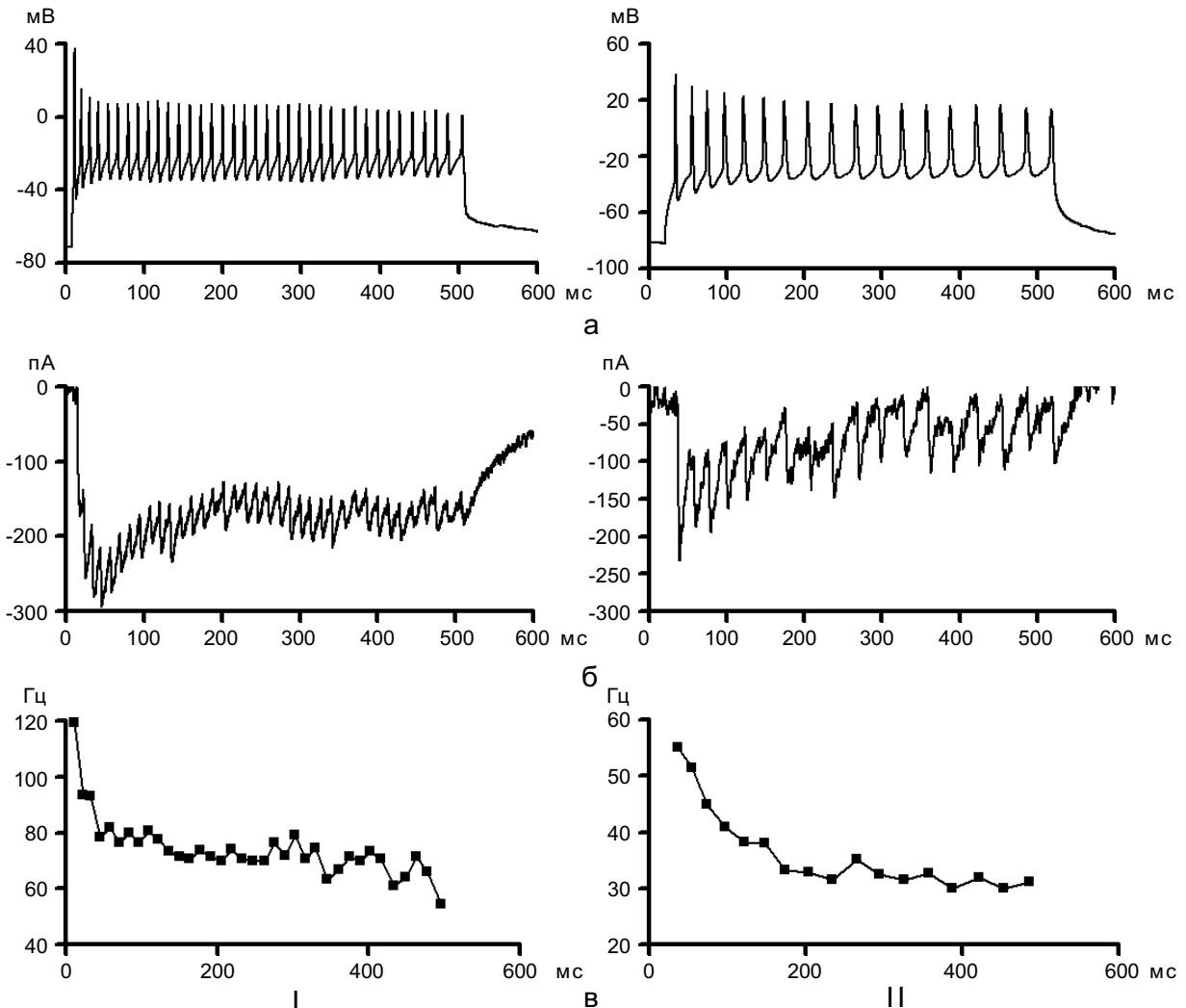


Рис. 2. Відповіді нейронів, що генерують потенціали дії (ПД) високочастотно (FS, I) і ритмічно (RS, II) стимуляцію струмом (а – серії потенціалів дії у відповідь на максимальний стимул, б – відповідні постсинаптичні струми, що були зареєстровані на постсинаптичних клітинах у режимі фіксації потенціалу при підтримуваному потенціалі  $-75$  мВ, постсинаптичний струм від серії ПД від FS-клітини помітно більш стабільний порівняно з RS-клітиною, в – миттєва частота генерації ПД залежно від часу з початку стимулу)

Kv3, викликав зворотні зміни в електричній активності FS-клітин, що підтверджує наявність високої калієвої провідності цього типу у FS-клітинах. Більше того, як показано [14], калієва провідність Kv3-типу, якщо вона наявна в клітині в достатній щільності, обов'язково призводить до здатності генерації ПД з високою частотою. Беручи до уваги те, що у нейронах гіпокампа в ранньому постнатальному періоді тип калієвих каналів Kv3 відсутній

[6, 25], можна зробити висновок, що поява цього типу разом з формуванням електрофізіологічних властивостей FS-клітин відбувається під час розвитку в культурі. Таким чином, можна припустити, що формування основних електрофізіологічних властивостей клітин у культурі відбувається подібно до *in vivo*.

Нам не вдалося знайти кореляції між основними електрофізіологічними показниками клітин і кількістю діб *in vitro* (від 14

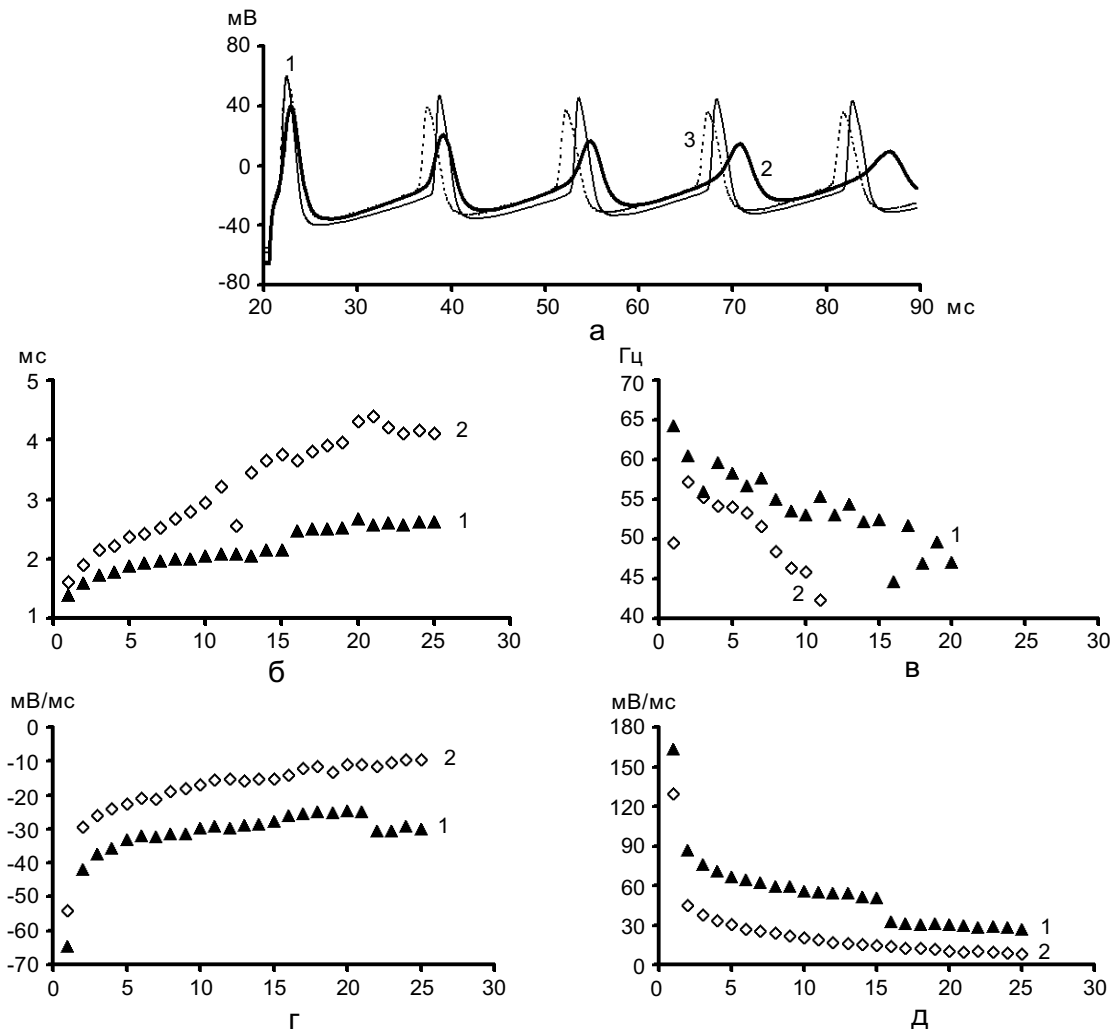


Рис 3. Дія 4-амінопіридину (400 мкмоль/л) на генерацію потенціалів дії (ПД) при максимальному стимулі: а – мембранний потенціал нейрона, б – збільшення ширини ПД (для 1-го ПД у серії з 1,38 до 1,60 мс, для останнього з 2,63 до 4,10 мс); в – зменшення миттєвої частоти генерації ПД (для 1-го ПД у серії з 64,23 до 49,53 Гц, для останнього з 55,32 до 42,33 Гц), г – зменшення максимальної швидкості реполяризації (для 1-го ПД у серії з –64,49 до –54,12 мВ/мс, для останнього з –29,91 до –9,77 мВ/мс), д – зменшення максимальної швидкості деполаризації (для 1-го ПД у серії з 163,37 до 129,60 мВ/мс, для останнього з 27,06 до 7,94 мВ/мс): 1 – контроль, 2 – 4-амінопіридин, 3 – відмивання

до 42 діб) у культурі. Це збігається з даними дослідження, що були проведені на зрізах гіпокампа [21], та свідчить про те, що формування основних електрофізіологічних характеристик клітин проходить у більш ранній етап постнатального розвитку, як *in vivo*, так і *in vitro*, хоча є відомості про остаточне завершення експресії Kv3, 2-субодиниці тільки на 21-шу добу постнатального розвитку [25].

Молекулярні механізми, що лежать в основі формування певних видів електричної активності та фармакологічні засоби впливу на них потребують подальшого вивчення.

*Робота частково підтримана грантами CRDF (UB1-2420-KV-01), Wellcome Trust (069663/Z/02/Z) та INTAS (47)*

**A. A. Moskalyuk, Yu. A. Kolodin, N. A. Kravchenko,  
S. A. Fedulova, N. S. Veselovsky**

#### **ELECTROPHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF INHIBITORY NEURONES IN DISSOCIATED HIPPOCAMPAL CULTURE**

Electrophysiological properties of inhibitory (GABAergic) neurones were studied in dissociated hippocampal culture using simultaneous whole cell recordings from pairs of monosynaptically coupled neurons. Reliable identification of GABAergic neuron was performed by presence of monosynaptic inhibitory currents at postsynaptic cell in response to action potentials at stimulated cell. It was shown that GABAergic neurons in hippocampal culture are divided in two groups by their firing characteristics: first type generates action potentials at high frequency in response to injection of current (duration 0.5 s) - fast-spiking neurons (FS), cells from second type has no ability for high-frequency action potential generation - regular spiking neurons (RS). These two groups were distinguished by kinetic characteristics of action potentials, adaptation characteristics during continuous generation of action potentials and inhibitory effect making on postsynaptic cell. Application of potassium channel blocker 4-AP to somas of FS neurons in concentration, which selectively inhibits Kv3 potassium channels evoked reversible changes in kinetic of action potentials, frequency and adaptation characteristics during continuous generation of action potentials. It was concluded that there is high level of expression of Kv3 potassium channels in the first group of neurons.

*International Center for Molecular Physiology, Kiev, Ukraine;*

*A. A. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kiev*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Лук'янець О.О., Яворський В.А. Вивчення дії пілокарпіну на властивості акомодатції ізольованих фазних нейронів гіпокампа щура // *Фізіол. журн.* – 1999. – **45**, №4. – С.35–40.
2. Buhl E.H., Han Z.S., Lorinczi Z. et al. Physiological properties of anatomically identified axo-axonic cells in the rat hippocampus // *J. Neurophysiol.* – 1994. – **71**, №4. – P.1289–1307.
3. Chitwood R.A., Jaffe D.B. Calcium-dependent spike-frequency accommodation in hippocampal CA3 nonpyramidal neurons // *Ibid.* – 1998. – **80**, №2. – P.983–988.
4. Chow A., Erisir A., Farb C. et al. K(+) channel expression distinguishes subpopulations of parvalbumin- and somatostatin-containing neocortical interneurons // *J. Neurosci.* – 1999. – **19**, №21. – P.9332–9345.
5. Connors B.W., Gutnick M.J. Intrinsic firing patterns of diverse neocortical neurons // *Trends Neurosci.* – 1990. – **13**, №3. – P.99–104.
6. Du J., Zhang L., Weiser M. et al. Developmental expression and functional characterization of the potassium-channel subunit Kv3.1b in parvalbumin-containing interneurons of the rat hippocampus // *J. Neurosci.* – 1996. – **16**, №2. – P.506–518.
7. Erisir A., Lau D., Rudy B., Leonard C. S. Function of specific K(+) channels in sustained high-frequency firing of fast-spiking neocortical interneurons // *J. Neurophysiol.* – 1999. – **82**, №5. – P.2476–2489.
8. 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.
9. Jensen K., Jensen M.S., Lambert J.D. Post-tetanic potentiation of GABAergic IPSCs in cultured rat hippocampal neurones // *J. Physiol.* – 1999 – 519 Pt 1 – P.71–84.
10. Jensen K., Lambert J.D., Jensen M.S. Activity-dependent depression of GABAergic IPSCs in cultured hippocampal neurons // *J. Neurophysiol.* – 1999. – **82**, №1. – P.42–49.
11. Khazipov R., Congar P., Ben Ari Y. Hippocampal CA1 lacunosum-moleculare interneurons: modulation of monosynaptic GABAergic IPSCs by presynaptic GABAB receptors // *Ibid.* – 1995. – **74**, №5. – P.2126–2137.
12. Lacaille J.C., Mueller A.L., Kunkel D.D., Schwartzkroin P.A. Local circuit interactions between oriens/alveus interneurons and CA1 pyramidal cells in hippocampal slices: electrophysiology and morphology // *J. Neurosci.* – 1987. – **7**, №7. – P.1979–1993.
13. Lacaille J.C., Schwartzkroin P.A. Stratum lacunosum-moleculare interneurons of hippocampal CA1 region. I. Intracellular response characteristics, synaptic responses, and morphology // *J. Neurosci.* – 1988. – **8**, №4. – P.1400–1410.
14. Lien C.C., Jonas P. Kv3 potassium conductance is necessary and kinetically optimized for high-frequency action potential generation in hippocampal interneu-

- rons // *Ibid.* – 2003. – **23**, №6. – P.2058–2068.
15. Maccaferri G., Roberts J.D., Szucs P. et al. Cell surface domain specific postsynaptic currents evoked by identified GABAergic neurones in rat hippocampus in vitro // *J.Physiol.* – 2000. – **524**, Pt 1. – P.91–116.
  16. Martina M., Schultz J.H., Ehmke H. et al. Functional and molecular differences between voltage-gated K<sup>+</sup> channels of fast-spiking interneurons and pyramidal neurons of rat hippocampus // *J.Neurosci.* – 1998. – **18**, №20. – P.8111–8125.
  17. McBain C.J., Fisahn A. Interneurons unbound // *Nat.Rev.Neurosci.* – 2001. – 2, №1. – P.11–23.
  18. Monyer H., Markram H. Interneuron Diversity series: Molecular and genetic tools to study GABAergic interneuron diversity and function // *Trends Neurosci.* – 2004. – **27**, №2. – P.90–97.
  19. Parra P., Gulyas A. I., Miles R. How many subtypes of inhibitory cells in the hippocampus? // *Neuron.* – 1998. – **20**, №5. – P.983–993.
  20. Poncer J.C., McKinney R.A., Gahwiler B.H., Thompson S.M. Differential control of GABA release at synapses from distinct interneurons in rat hippocampus // *J.Physiol.* – 2000. – **528**, Pt 1. – P.123–130.
  21. 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.
  22. Savic N., Sciancalepore M. Electrophysiological characterization of «giant» cells in stratum radiatum of the CA3 hippocampal region // *Ibid.* – 2001. – **85**, №5. – P.1998–2007.
  23. Schwartzkroin P.A., Scharfman H.E., Sloviter R.S. Similarities in circuitry between Ammon's horn and dentate gyrus: local interactions and parallel processing // *Prog.Brain Res.* – 1990. – **83**. – P.269–286.
  24. Storozhuk M.V., Ivanova S.Y., Pivneva T.A. et al. Post-tetanic depression of GABAergic synaptic transmission in rat hippocampal cell cultures // *Neurosci.Lett.* – 2002. – **323**, №1. – P.5–8.
  25. Tansey E.P., Chow A., Rudy B., McBain C.J. Developmental expression of potassium-channel subunit Kv3.2 within subpopulations of mouse hippocampal inhibitory interneurons // *Hippocampus.* – 2002. – **12**, №2. – P.137–148.
  26. Veselovsky N.S., Engert F., Lux H.D. Fast local superfusion technique // *Pflug. Arch.* – 1996. – **432**, №2. – P.351–354.
  27. Vida I., Frotscher M. A hippocampal interneuron associated with the mossy fiber system // *Proc. Natl. Acad. Sci.U.S.A* – 2000. – **97**, №3. – P.1275–1280.
  28. Williams S., Samulack D.D., Beaulieu C., Lacaille J.C. Membrane properties and synaptic responses of interneurons located near the stratum lacunosum-moleculare/radiatum border of area CA1 in whole-cell recordings from rat hippocampal slices // *J.Neurophysiol.* – 1994. – **71**, №6. – P.2217–2235.
  29. Zimmermann H.-J. Fuzzy Set Theory – and Its Applications. 3rd ed. – Kluwer Academic Publishers, 1996.

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

*Матеріал надійшов до  
редакції 30.04.2004*