

С.М. Корогод, І.Б. Кулагіна

Динамічні електричні стани неоднорідних популяцій іонних каналів у мембранах збудливих клітин

На комп'ютерних моделях досліджували миттєві, змінні у часі, вольт-амперні характеристики (мВАХ) популяцій іонних каналів, характерних для мембрани збудливих клітин різних типів, чії відповіді на електричні стимули суттєво відрізняються – гігантського аксона кальмара (модель Ходжкіна–Хакслі), кардіоміоцита, дендритів пірамідального нейрона зони СА3 гіпокампа та нейрона Пуркінє мозочка. Згідно зі стандартним протоколом ступінчастої фіксації, мембранний потенціал від початкового рівня спокою стрибком змінювали до певного тестового деполяризаційного рівня, який фіксували протягом якогось часу, та вимірювали сумарний струм у різні моменти часу від початку стрибка. Для кожної мВАХ визначали точки (потенціали) нульового струму. Множину таких точок, що були на ділянках позитивного нахилу мВАХ і відповідали стану високої деполяризації мембрани (стану збудження, upstate) у різні моменти від початку зрушення мембранного потенціалу, використовували як характеристики динаміки збудженого стану у часі. За такими ознаками мембрана аксона характеризувалася поодиноким станом збудження, що швидко виникав (0,25 мс) і був короткотривалим (за час життя 5,5 мс зменшувався від 45 до -40 мВ). У мембрани кардіоміоцита таких станів було два. Перший – ранній, який швидко виникав і був короткоживучим (такий, що швидко релаксує). Він виникав одразу після деполяризаційного поштовху та тривав 14,5 мс. Другий – пізній, повільно зростає, був довготривалим (виникав із затримкою у 7,5 мс, підвищувався від 11 до 46 мВ за 39 мс і далі релаксував, загалом триваючи близько 623 мс). Дендритна мембрана СА3 нейронів мала один довготривалий стан збудження, що виникав недовзі після деполяризаційного зсуву, спочатку швидко релаксував за 3 мс від початкового значення 30 мВ до -10 мВ і далі повільно стабілізувався на рівні -20 мВ за 80 мс. У мембрани нейронів Пуркінє виявлено два короткотривалих і один дуже довготривалих стани збудження. Перший стан дуже високої деполяризації (понад 100 мВ) релаксував до 4 мВ за 0,8 мс. Незадовго до його зникнення, на 0,7 мс виникав другий, короткотривалий стан, який за 1 мс релаксував від -22 до -48 мВ. На 1,8 мс виникав новий стан збудження, який після перехідного процесу релаксації, починаючи з 88-ї мілісекунди, стабілізувався на рівні -29,65 мВ. Отже, мВАХ дали змогу розкрити тонку організацію станів електричного збудження мембран, виявити у різних за складом популяцій іонних каналів існування різної кількості згаданих станів, що суттєво відрізняються один від одного за часом виникнення та тривалістю життя.

Ключові слова: миттєва вольт-амперна характеристика, гігантський аксон кальмара, кардіоміоцит, пірамідальний нейрон гіпокампа, нейрон Пуркінє.

ВСТУП

Проблема електричної збудливості клітин є однією з фундаментальних у галузі фізіології та біофізики. Незважаючи на більше ніж сторічну історію досліджень, певні важливі аспекти цієї проблеми залишаються нез'ясованими. Зокрема, це стосується й

характеристик стану збудження клітин, що проявляється у регенеративній деполяризації плазматичної мембрани, викликаній електричним подразником – імпульсом струму або напруги відповідної полярності. Така самопідтримувана деполяризація, зокрема у вигляді потенціалу дії (ПД), що триває й після виключення подразника, може істотно

відрізнитися за часовим перебігом у клітинах різних типів (нейрони, м'язові волокна) і навіть у різних частинах певної клітини (аксон і дендрити одного й того самого нейрона). Вочевидь, ці відмінності пов'язані зі складом і властивостями іонних каналів, наявних у мембрані тих чи інших клітин або їх частин. Найбільш узагальненим і поширеним представленням електричних властивостей як однорідних, так і неоднорідних за складом популяцій іонних каналів є вольт-амперні характеристики (ВАХ). Так, для цієї популяції каналів стаціонарні ВАХ визначають кількість і стабільність стаціонарних електричних станів – рівнів мембранного потенціалу, яким відповідає баланс вхідних і вихідних трансмембранних струмів, а, отже, нульовий загальний трансмембранний струм. За цими ознаками розрізняють, наприклад, моно- і бістабільні ВАХ. З останніми, що графічно є N-подібними, асоціюються певні особливості клітинних електрофізіологічних процесів. Такими, наприклад, є генерація осциляторних деполяризаційних плато-потенціалів або пачок ПД у мотонейронах, що є важливим фактором забезпечення стереотипних періодичних рухів [11], або наявність плато-фази у ПД шлуночкових кардіоміоцитів на відміну від міоцитів передсердь, у яких ВАХ не є N-подібною, а ПД не мають деполяризаційного плато [6, 5]. Оскільки функціонування клітин пов'язане головним чином зі змінами мембранного потенціалу у часі, найбільший інтерес викликають динамічні, або миттєві ВАХ (мВАХ), котрі відображають змінний у часі баланс струмів через іонні канали. Проте саме такі ВАХ залишаються поки що майже недослідженими, це стосується мВАХ неоднорідних за складом популяцій іонних каналів у різних типах клітин. Це і стало метою нашої роботи.

МЕТОДИКА

Обчислювальні експерименти виконані на створених у програмному середовищі NEURON [8] моделях мембран з чотирма

популяціями (наборами, “коктейлями”) різнотипних іонних каналів, характерними для різних збудливих клітин. 1. Мембрана гігантського аксона кальмара містила канали натрієвого струму, що швидко інактивується, калієвого, що не інактивується, та неспецифічного струму пасивного витоку з такими самими параметрами, як у класичній моделі Ходжкіна–Хакслі [10]. 2. Мембрана кардіоміоцита (волокна міокарда серцевого шлуночка) містила такі канали: натрієвого струму, що інактивується, кальцієвого струму L-типу та калієвих струмів двох типів – незалежного від часу зворотного випрямлення та такого, що не інактивується. Всі ці канали описані так само, як у моделі Білера та Рейтера, адаптованій Ганьє до середовища NEURON [3], що була отримана нами з бази даних ModelDB (номер доступу 97863) [9, 14]. 3. Мембрана дендрита пірамідального нейрона зони CA3 гіпокампа містила канали таких струмів: натрієвого, що інактивується; чотирьох потенціалзалежних калієвих струмів – затриманого випрямлення, чутливого до мускарину, та таких, що швидко й повільно інактивуються – А- та D-типу; двох калієвих струмів, залежних від Ca^{2+} (високо- і низькопороговий); трьох кальцієвих струмів (N-, L- та T-типів); а також неспецифічного катіонного струму (h-типу), що активується гіперполяризацією. Ці струми були ідентичними щодо використаних у моделі Хемонда і співавт. [7] (номер доступу 101629 у базі даних ModelDB). 4. Мембрана дендрита нейрона Пуркінє мозочка містила канали таких типів: кальцієвого струму P-типу; калієвих струмів затриманого випрямлення та А-типу, а також кальційзалежного калієвого струму та неспецифічного струму витоку. Такий склад струмів та їх параметри були ідентичними використаним у моделях, що описані у літературі [13, 15]. У останніх двох моделях ураховували зміни концентрації Ca^{2+} у примембранному шарі цитоплазми, котрі були спричинені дією кальцієвих насосів, депо та дифузиею іона у глибинні шари цитозолу [7, 13, 15], а також включали дію збуджуваль-

ного синапсу. Остання полягала у внесенні змінної у часі синаптичної провідності, пов'язаної з потенціалом рівноваги 0 мВ [12]. Миттєві (змінні у часі) вольт-амперні характеристики сумарного трансмембранного струму отримували, використовуючи стандартний протокол ступінчастої фіксації потенціалу [2, 4]. Мембранний потенціал від початкового рівня утримання (holding potential), близького до потенціалу спокою або більш негативного, стрибком змінювали до певного тестового деполяризаційного рівня, який фіксували протягом деякого часу, та вимірювали сумарний струм у різні моменти часу від початку згаданого стрибка. Для кожної мВАХ визначали потенціали, при яких струм дорівнював нулю – точки нульового струму, або квазістаціонарні точки. Множину таких точок, що знаходилися на ділянках позитивного нахилу мВАХ і відповідали стану високої деполяризації мембрани (upstate) у різні моменти часу від початку зрушення мембранного потенціалу, використовували як характеристику змін збудженого стану мембрани у часі.

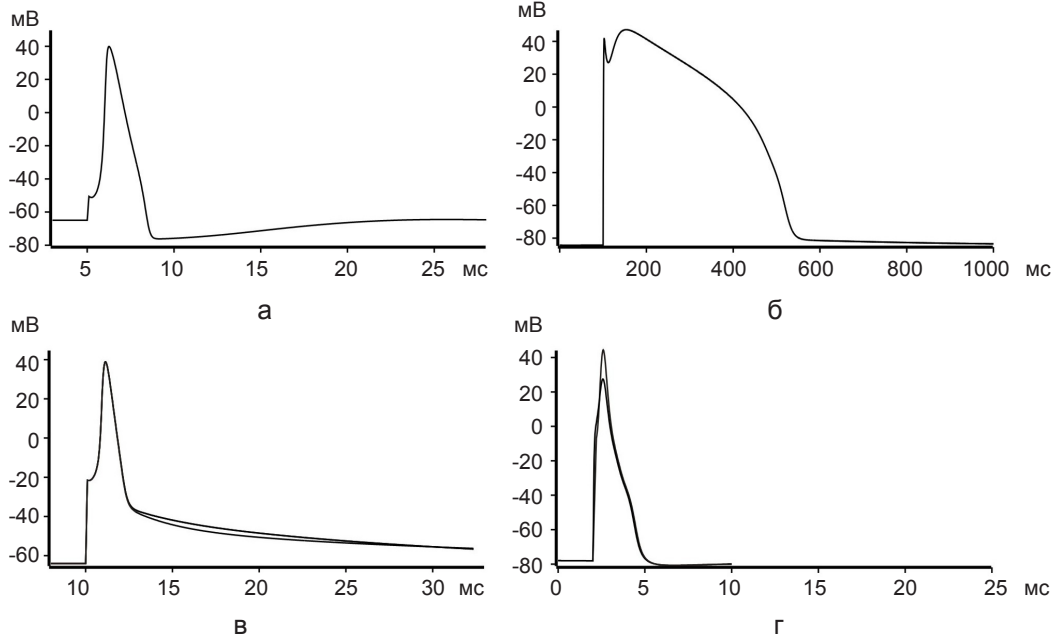


Рис. 1. Регенеративні деполяризаційні потенціали, викликані у збудливих мембранах з різними за складом популяціями іонних каналів під дією імпульсу деполяризаційного струму від зовнішнього генератора (а–г) або збуджувального синапсу (в, г – тонкі лінії). Склад іонних каналів відповідає описаному у гігантському аксоні кальмара (а), кардіоміоциті (б), а також у дендритах пірамідальних нейронів зони СА3 гіпокампа (в) та нейронів Пуркінє мозочка (г)

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати першої серії обчислювальних експериментів, представлені на рис. 1, продемонстрували здатність використаних нами моделей відтворювати основні риси регенеративних відповідей на електричний подразник, які притаманні клітинам відповідних типів. Так, мембрана гігантського аксона кальмара генерувала короткотривалий (близько 2 мс) деполяризаційний імпульс ПД зі слідовою гіперполяризацією (див. рис. 1, а). Відповідь мембрани кардіоміоцита на аналогічний стимул суттєво відрізнялася. Тут за початковою фазою швидкозростаючого та короткотривалого піка слідувала довготривала (понад 400 мс) платоподібна деполяризація майже така, як і початковий пік (див. рис. 1, б). Деполяризаційна відповідь дендритної мембрани гіпокампальних пірамідальних нейронів була також двофазною. За швидким високоамплітудним піком (ПД) розвивалася слідова деполяризація, яка від початку була у декілька разів меншою, ніж пік і повільно знижувалася протягом десятків мілісекунд

(див. рис. 1, в, товста лінія). Відповідь на коротке синаптичне збудження була дещо меншою (тонка лінія), що зумовлено певним збільшенням мембранної провідності при активації відповідних синапсів. Дендритна мембрана нейронів Пуркіньє реагувала на аналогічні деполяризаційні стимули генерацією швидкого піка (дещо меншої амплітуди у разі синаптичного збудження), на низхідній фазі якого спостерігалася деполяризаційна “полічка” певної тривалості (див. рис. 1, г). Виникає питання щодо електричних станів

мембрани під час генерації таких різних відповідей: чи існує при цьому поодинокий стан, якому притаманний “аналоговий”, безперервний перехід до стану спокою, або спостерігаються послідовні переходи між декількома дискретними станами? Відповідь мали дати мВАХ, отримані у наступних обчислювальних експериментах.

Динаміка електричних станів мембрани аксона – відомої моделі Ходжкіна–Хакслі показана на рис. 2. Ця поширена та досконало вивчена модель зручна для порівняння. Ви-

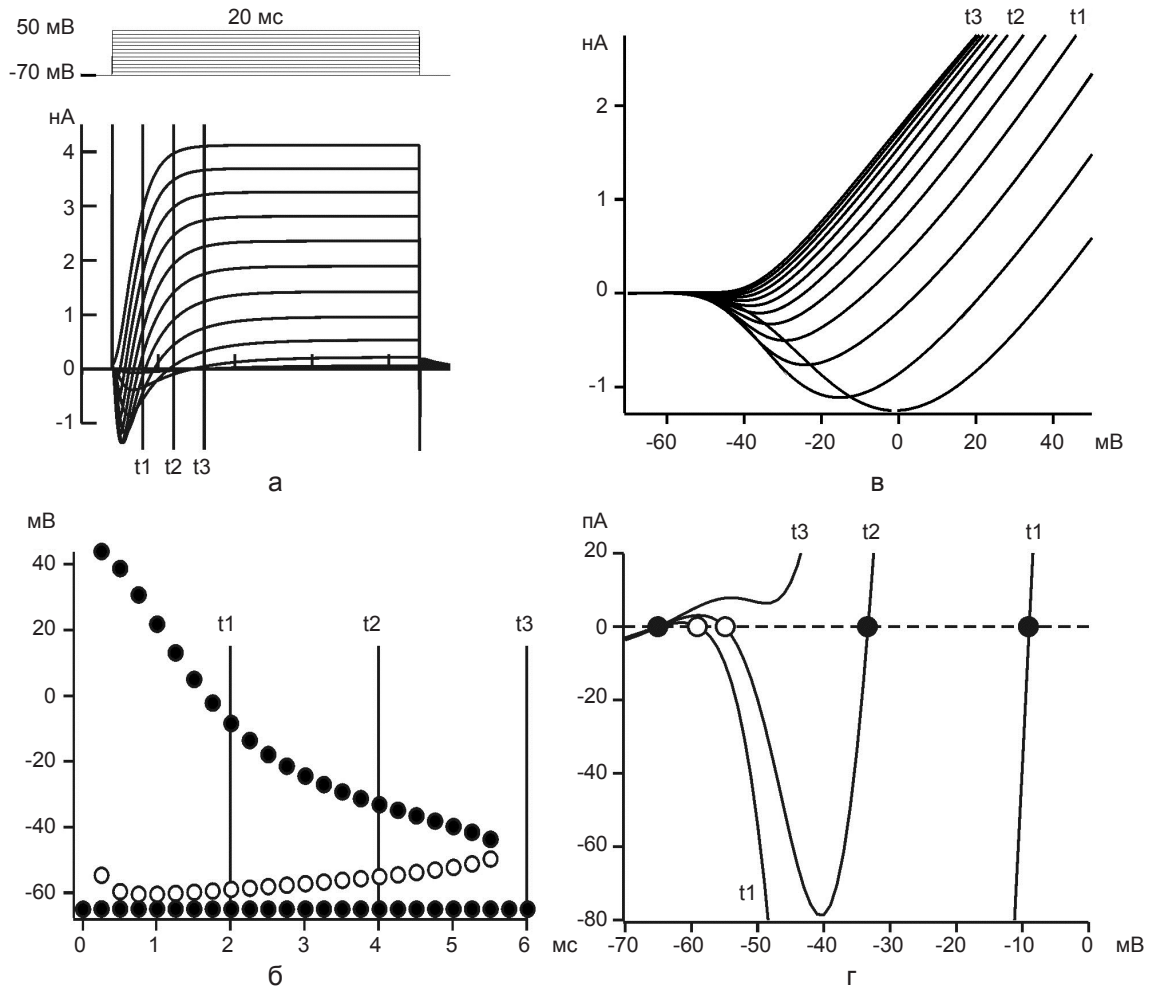


Рис. 2. Динаміка поодинокого короткотривалого стану збудження мембрани гігантського аксона кальмара (модель Ходжкіна–Хакслі): а – зміни у часі сумарного трансмембранного струму, викликаного показаними на вставці угорі ступінчастими стрибками командної напруги (тривалість 20 мс, амплітуда – від початкового рівня -70 до 50 мВ, крок приросту – 5 мВ); б – зміни у часі напруги, що відповідає нульовому струму на а; в, г – миттєві вольт-амперні характеристики (мВАХ) сумарного струму. Чорні та білі кружечки – точки нульового струму на ділянках позитивного та негативного нахилу мВАХ відповідно. t_1 , t_2 і t_3 – моменти часу (2, 4 та 6 мс), для яких за даними, показаними на а, виміряні мВАХ, позначені товстими лініями на в і г, а також відповідні точки нульового струму на б і г

користовуючи записи загального трансмембранного струму, викликаного східчастим 20-мілісекундним зсувом мембранного потенціалу від рівня спокою до певного деполяризаційного рівня (а), кожні 0,25 мс від початку східця вимірювали мВАХ (в, г) і визначали її точки нульового струму (б–г). Починаючи з 0,25 мс, мВАХ була N-подібною з трьома точками нульового струму. Дві такі точки були розташовані на ділянках позитивного нахилу мВАХ (чорні кола), одна з яких відповідала низькому рівню мембранного потенціалу спокою (-65 мВ), а друга – більш або менш високій деполяризації. Електричні стани, що відображаються такими точками мВАХ, у англійській літературі позначаються як downstate та upstate відповідно. Саме точка, що відповідала високій деполяризації (upstate), розглядалася як індикатор збудженого стану. Інша точка нульового струму була на ділянці негативного нахилу мВАХ (білі кола) та відповідала проміжному рівню мембранної деполяризації. З плином часу мВАХ еволюціонувала таким чином, що висока мембранна деполяризація, якій відповідала точка нульового струму на ділянці позитивного нахилу мВАХ, знижувалася від 45 мВ до -40 мВ, і до цього самого значення наближалася точка нульового струму, яка відповідала проміжному рівню деполяризації.

Нелінійна мВАХ залишалася N-подібною до моменту 5,5 мс, після чого у неї була лише одна точка нульового струму, яка відповідала мембранному потенціалу спокою -65 мВ. Практично з цього моменту мВАХ збігалася із добре відомою стаціонарною ВАХ мембрани Ходжкіна–Хакслі, яка є нелінійною з позитивним нахилом і єдиною точкою нульового струму при мембранному потенціалі спокою [1]. Таким чином, визначені на основі мВАХ динамічні електричні властивості мембрани аксона можна охарактеризувати як здатність до утворення короткоживучого (близько 5 мс) стану збудження у вигляді деполяризації, що прагне самопідтримуватися. Відповідно генерація швидкого мембранного ПД може

розглядатися як перехід мембрани зі стану спокою у цей короткотривалий швидкокорелаксуючий стан збудження і наступне повернення до стану спокою після закінчення терміну життя цього збудження.

На рис. 3 показано мВАХ і виявлені за їх допомогою динамічні стани збудження мембрани кардіоміоцита. У цьому разі застосовувалися деполяризаційні східці тестової напруги тривалістю 2 с. Зміни у часі загального трансмембранного струму були більш складними (а), що позначалося й на більш складні мВАХ (г–е), які істотно відрізнялися за кількістю та динамікою точок нульового струму (б, в) порівняно з мВАХ мембрани аксона (див. рис. 2). Так, починаючи з першого моменту реєстрації (0,25 мс від початку деполяризаційного східця), мВАХ з трьома точками нульового струму спостерігалися протягом 7 мс, після чого їх кількість стрибком збільшувалася до 5, а через наступні 7,5 мс також стрибком зменшувалася до 3. З 630-ї мілісекунди від початку східця у всіх наступних мВАХ зберігалася лише поодинокі точка нульового струму на рівні потенціалу спокою, близького до -84 мВ. Відповідно динамічні електричні властивості мембрани кардіоміоцита характеризувалися вже не одним, а двома станами збудження. Першим таким станом був ранній, короткоживучий, такий, що швидко виникав і швидко релаксував. Він виникав після деполяризаційного поштовху практично миттєво та тривав протягом 14,5 мс. Другий стан збудження – пізній, довготривалий (виникав із затримкою приблизно у 7,5 мс і тривав близько 623 мс), повільно зростаючий (підвищення відповідного рівня високої деполяризації від 11 до 46 мВ протягом 39 мс). Релаксація довготривалого стану збудження у часі відбувалася з різною швидкістю у різних діапазонах деполяризації. Так, деполяризація, що відповідала цьому станові, знижувалася (релаксувала) у діапазоні від максимуму 46,75 до 6 мВ, тобто приблизно на 40 мВ за 200 мс. Її релаксація у діапазоні від 6 до -14 мВ, тобто на 20 мВ, проходила

швидше майже на порядок – за 20 мс. Нарешті, у діапазоні від -14 до -30 мВ цей процес відбувався приблизно на півтора порядки повільніше (за 360 мс на 16 мВ). Відповідно типова реакція мембрани кардіоміоцита на деполяризаційний стимул (див. рис. 1, б)

може бути охарактеризована у термінах динаміки станів збудження таким чином. Генерація раннього швидкого деполяризаційного піка ПД кардіоміоцита розглядатиметься як швидкий перехід мембрани зі стану спокою у перший, короткотривалий стан збудження з

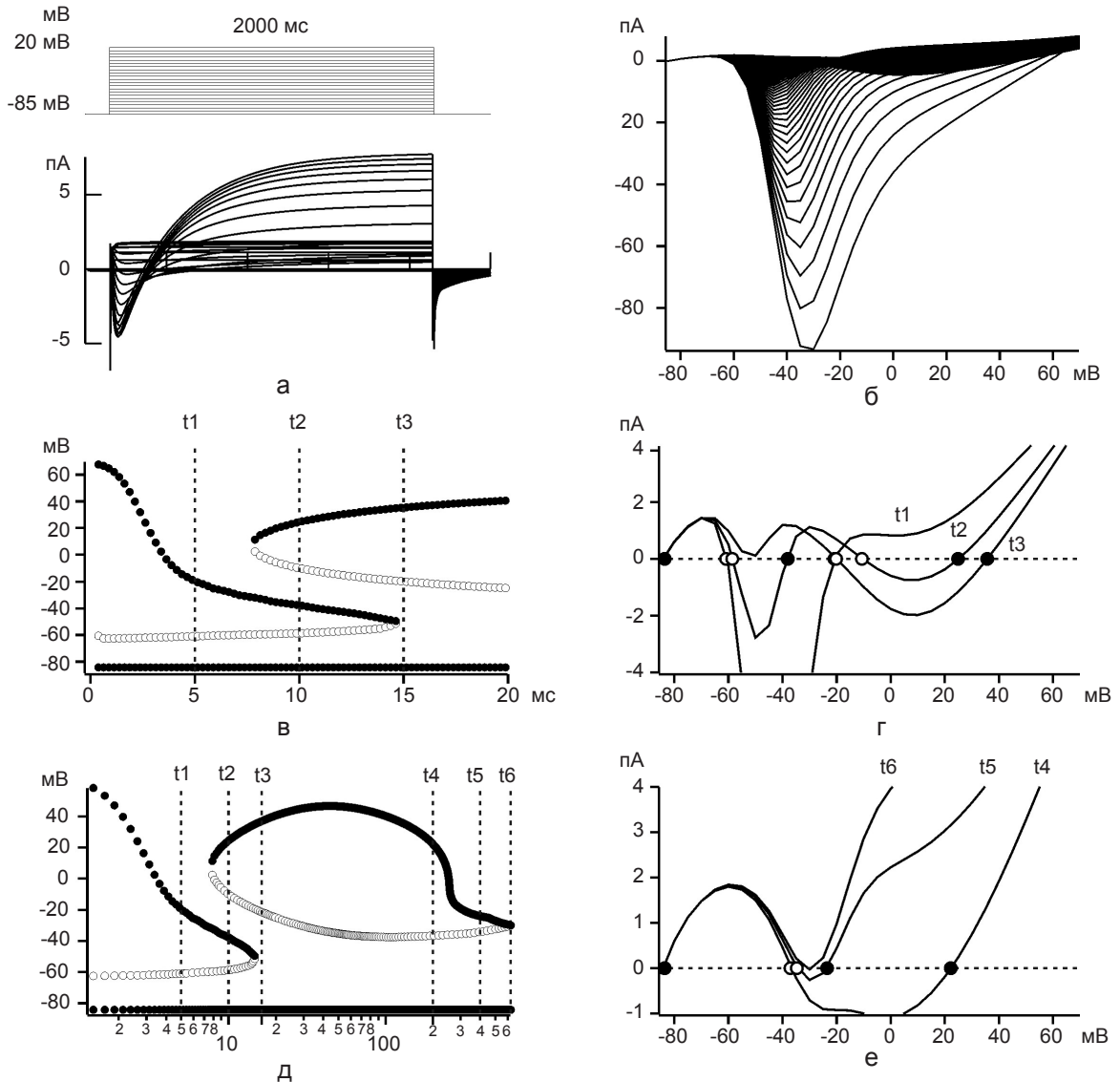


Рис. 3. Динаміка коротко- та довготривалого станів збудження мембрани кардіоміоцита: а – зміни у часі сумарного трансмембранного струму, викликаного показаними на вставці вгорі ступінчастими стрибками командної напруги (тривалість 2 мс, амплітуда – від початкового рівня -85 до 65 мВ); б і в – зміни у часі (мс) напруги (мВ), що відповідає нульовому струму на а – для діапазонів часу 0–20 і 0–600 мс відповідно (шкала абсциси на в – логарифмічна); г, е – миттєві вольт-амперні характеристики (мВАХ) сумарного струму. Чорні та білі кружечки – точки нульового струму на ділянках позитивного та негативного нахилу відповідно, t1–t6 – моменти часу для яких за даними, показаними на а, виміряні мВАХ представлені на д і е. Графіки на д і е відповідають позначеним вертикальними лініями на б і в моментам часу t1–t6, коли існують різні кількості станів збудження, що відповідають високій деполяризації

відносно швидкою релаксацією. Виникнення на низхідній фазі швидкого піка плато-деполяризації та її повільне зростання відповідає переходу мембрани у новоутворений пізній, довготривалий стан збудження. Розвиток плато, що нешвидко спадає, відповідає першій фазі повільної релаксації довготривалого збудженого стану. Пришвиджене зменшення плато та перехід до довготривалої слідової депольаризації відповідають другій (швидкій) і третій (надповільній) фазам релаксації зазначеного довготривалого стану збудження.

Різні зміни збудження населеної неоднорідними популяціями каналів дендритної мембрани різнотипних нейронів можна бачити на рис. 4. Так, дендритна мембрана гіпокампальних пірамідальних нейронів у цьому прикладі від самого початку характеризувалася наявністю одного довготривалого стану збудження. Цей стан виникав невдовзі після депольаризаційного зсуву та спочатку швидко релаксував, за 3 мс від початкового рівня 30 до -10 мВ, а далі – повільно стабілізувався (на рівні близько -20 мВ приблизно за 80 мс). Така динаміка поодинокого стану збудження відповідала представленій на рис. 1, у реакції досліджуваної мембрани на депольаризаційні стимули, а саме швидкому спаду дендритного ПД відповідала фаза швидкої релаксації збудженого стану, а тривалій слідовій депольаризації – фаза повільної довготривалої релаксації та стабілізації.

Дендритна мембрана нейронів Пуркінє мозочка характеризувалася двома короткотривалими і одним дуже довготривалим станом збудження (див. рис. 4, б і в). Перший стан дуже високої депольаризації (понад 100 мВ) виникав менше ніж за 0,1 мс від початку депольаризаційного зсуву та релаксував до рівня, близько 4 мВ за 0,8 мс. Незадовго до повної релаксації (зникнення) цього стану у момент 0,7 мс виникав інший, короткотривалий депольаризаційний стан, який за наступну 1 мс релаксував від початкового рівня -22 до -48 мВ. Далі мембрана короткочасно (протягом 0,25 мс) перебувала у незбудженому

стані (мембранний потенціал був близько до -78 мВ – рівня спокою). Після цього у момент 1,8 мс від початку депольаризаційного схида виникав новий стан збудження, який після певного перехідного процесу (підвищення депольаризації від початкового рівня 6 мВ до максимуму 76,4 мВ і подальшого спаду), починаючи з 88-ї мілісекунди стабілізувався на рівні -29,65 мВ. Таким чином, мембрана ставала електрично бістабільною, тобто характеризувалася двома стабільними станами -29,65 мВ (upstate) і -78,28 мВ (downstate) та одним нестабільним (-47,69 мВ). Саме першому короткотривалому стану збудження

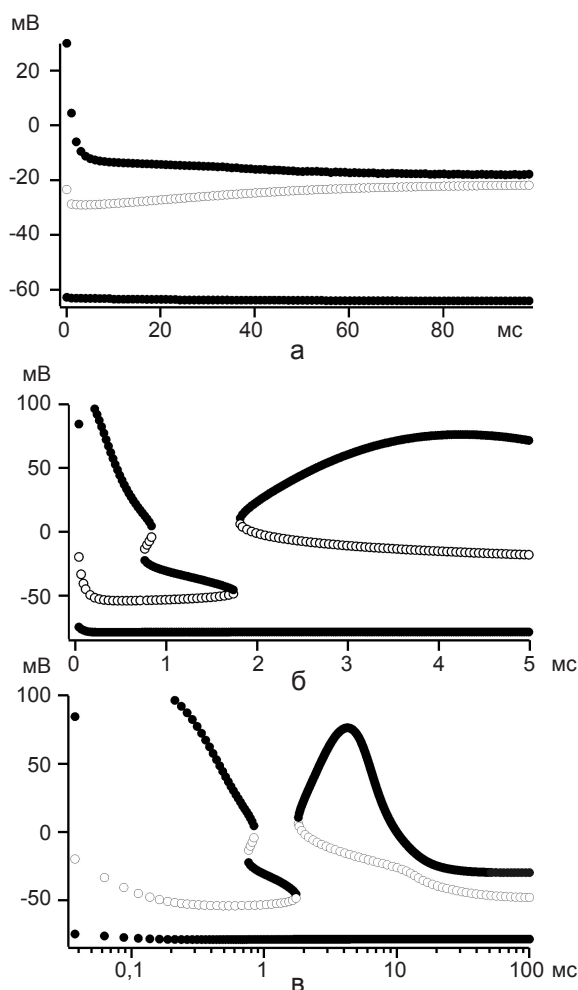


Рис. 4. Динамічні електричні стани неоднорідних популяцій каналів збудливої мембрани дендритів пірамідальних нейронів зони СА3 гіпокампа (а) та нейронів Пуркінє мозочка (б, в)

відповідає швидке зростання і швидке зниження дендритного потенціалу дії, а другому, короткотривалому стану відповідає певне уповільнення спаду мембранної деполяризації, яка врешті переходить у слідову гіперполяризацію, лише трошки нижчу за потенціал спокою. Оскільки цей стан, у якому опинялася мембрана по закінченні дендритного потенціалу дії, також є стабільним, мембранний потенціал після слідової гіперполяризації повертається до спокою.

Отже, дослідження мВАХ розкрили доволі тонку динамічну організацію збуджених електричних станів населеної різними за складом популяціями іонних каналів мембрани у клітин різних типів. На відміну від стаціонарних ВАХ, точки нульового загального струму миттєвих (динамічних) мВАХ не є, по суті, стаціонарними, оскільки баланс вхідних і вихідних струмів є динамічним. Іншими словами, він досягається у різні моменти часу при неоднакових значеннях мембранної напруги. Принципово важливою є електрична поведінка популяції іонних каналів поблизу точок нульового струму, що розташовані на вітках ВАХ з позитивним нахилом. У разі стаціонарних ВАХ такі точки є стабільними, тобто будь-яке відхилення мембранного потенціалу від рівня нульового струму (балансу вхідного та вихідного струмів) спричиняє посилення струму такого напрямку, котрий повертає мембранний потенціал назад, доки це відхилення не зникне. Теоретично такий стан може існувати нескінченно довго, доки не буде змінений зовнішньою дією (наприклад, гіперполяризаційним поштовхом). Подібні ж точки динамічної мВАХ можна охарактеризувати як квазістабільні. Відхилення мембранного потенціалу від такої точки породжує подібні “компенсаторні” струми, які намагаються ліквідувати відхилення. Проте повернення точно у ту саму точку неможливе через таку зміну станів іонних каналів, яка спричиняє зміну рівня мембранного потенціалу, відповідну новому балансу струмів крізь ці канали. Як наслідок,

через нездатність “компенсаторних” струмів забезпечити нескінченно довге підтримання (стабілізацію) мембранного потенціалу на такому рівні, можна говорити лише про більш або менш тривале перебування мембранного потенціалу у певному діапазоні значень. Саме таке його перебування у зазначеному діапазоні деполяризаційних значень протягом обмеженого відрізка часу і може визначати (характеризувати) перебування мембрани у динамічному стані збудження. Тривалість же цього обмеженого відрізка, відповідно, визначає час життя збудженого стану.

У загальному підсумку можна зазначити, що миттєві динамічні ВАХ показали себе адекватним інструментом дослідження тонкої організації станів електричного збудження мембрани, який дав змогу виявити у різних за складом (неоднорідних) популяціях іонних каналів існування різної кількості таких станів, котрі суттєво відрізняються один від одного за часом виникнення та тривалістю. Згідно із цими ознаками, можна певним чином класифікувати мембранні електричні властивості клітин різних типів і різних структурних частин клітин того чи іншого типу.

С.М. Корогод, І.Б. Кулагіна

ДИНАМИЧЕСКИЕ ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СОСТОЯНИЯ НЕОДНОРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ИОННЫХ КАНАЛОВ В МЕМБРАНАХ ВОЗБУДИМЫХ КЛЕТОК

На компьютерных моделях исследовали мгновенные, изменяющиеся во времени, вольт-амперные характеристики (мВАХ) популяций ионных каналов, характерных для мембраны возбудимых клеток разных типов, чьи ответы на электрические стимулы существенно отличаются – гигантского аксона кальмара (модель Ходжкина–Хаксли), кардиомиоцита, дендритов пирамидального нейрона зоны СА3 гиппокампа и нейрона Пуркинье мозжечка. В соответствии со стандартным протоколом ступенчатой фиксации, мембранный потенциал от начального уровня покоя скачком изменяли до определенного тестового деполяризационного уровня, который фиксировали в течение определенного времени, и измеряли суммарный ток в разные моменты времени от начала скачка. Для каждой мВАХ определяли точки (потенциалы) нулевого тока. Множество

таких точек, расположенных на участках положительного наклона мВАХ и соответствующих состоянию высокой деполяризации мембраны (состоянию возбуждения, upstate) в разные моменты после начала смещения мембранного потенциала, использовали как характеристику динамики возбужденного состояния во времени. По этим признакам мембрана аксона характеризовалась одиночным состоянием возбуждения, которое быстро возникало (0,25 мс) и было кратковременным (за время жизни 5,5 мс спадало от 45 до -40 мВ). У мембраны кардиомиоцита таких состояний было два. Первое – раннее, быстро возникающее и короткоживущее (быстро релаксирующее). Оно возникало сразу же после деполяризационного толчка и длилось 14,5 мс. Второе – позднее, медленно нарастающее, долго длящееся (возникало с задержкой 7,5 мс, нарастало от 11 до 46 мВ за 39 мс и далее релаксировало, длясь в общей сложности около 623 мс). Дендритная мембрана CA3 нейронов имела одно длительное состояние возбуждения, которое возникло вскоре после деполяризационного смещения, вначале быстро релаксировало за 3 мс от начального уровня 30 мВ до -10 мВ и далее медленно, за 80 мс стабилизировалось на уровне -20 мВ. У мембраны нейронов Пуркинью выявлено два кратковременных и одно очень длительное состояния возбуждения. Первое состояние очень высокой деполяризации (свыше 100 мВ) релаксировало до 4 мВ за 0,8 мс. Незадолго до его исчезновения, на 0,7 мс возникало второе кратковременное состояние, которое за 1 мс релаксировало от -22 мВ до -48 мВ. На 1,8 мс возникло новое состояние возбуждения, которое после переходного процесса релаксации, начиная с 88-й мс, стабилизировалось на уровне -29,65 мВ. Таким образом, мВАХ позволили раскрыть тонкую организацию состояний электрического возбуждения мембран, выявить у разных по составу популяций ионных каналов существование разного числа названных состояний, которые существенно отличаются друг от друга по времени возникновения и продолжительности жизни.

S.M. Korogod, I.B. Kulagina

DYNAMICAL ELECTRICAL STATES OF HETEROGENEOUS POPULATIONS OF ION CHANNELS IN THE MEMBRANES OF EXCITABLE CELLS

In computer models, we studied instantaneous (time-varying) current-voltage relationships (iIVs) of populations of ion channels characteristic of the membrane of different type excitable cells, of which the responses to electrical stimuli essentially differ: giant squid axon (Hodgkin-Huxley model), cardiomyocyte, dendrites of CA3 hippocampal pyramidal neurons and Purkinje neurons of the cerebellum. The membrane potential was stepped from the rest level to a certain depolarization test level that was clamped for a certain time, and the total current was measured at different moments after the step onset. For each iIV zero-current points (potentials) were determined. A set of such points, which were situated on the limb of iIV positive slope and corresponded to the state

of high membrane depolarization (excitation state, upstate) at different time moments, were used to characterize the dynamics of the excitation state in time. With these indicators the axon membrane was characterized by a single excitation state that rapidly occurred (0.25 ms) and was short-lasting (decayed from -45 to 40 mV during life-time of 5.5 ms). There were two such states of the membrane of cardiomyocyte. The first one was early, rapidly occurring and short-living (rapidly relaxing). It occurred shortly after the depolarization start and lasted for 14.5 ms. The second one was late, slowly rising and long-lasting (occurred with a 7.5-ms delay, increased from 11 to 46 mV in 39 ms and then relaxed lasting for 623 ms in total). The dendritic membrane of CA3 neurons had one long-lasting excitation state that occurred shortly after the depolarization shift, first rapidly relaxed during 3 ms from initial 30 mV level to -10 mV and then slowly, in 80 ms, stabilized at the level of -20 mV. In the Purkinje neuron membrane two short-lasting and one very long-lasting excitation states were revealed. The first state of very high (>100 mV) depolarization relaxed to 4 mV in 0.8 ms. Shortly before its vanishing, at 0.7 ms, the second short-lasting state emerged, which relaxed in 1 ms from -22 mV to -48 mV. At 1.8 ms a new excitation state emerged, which after a transient relaxation stabilized at -29.65 mV starting from 88 ms. Thus, iIVs allowed disclosing a fine organization of the states of electrical excitation of the membrane and revealing, in populations of ion channels of different content, existence of different number of the mentioned states, which differ from each other in occurrence time and life-time.

*International Center for Molecular Physiology
(Dnipropetrovsk Division), National Academy of Sciences
of Ukraine*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ходоров Б.И. Общая физиология возбудимых мембран. – М.: Наука, 1975. – 405 с.
2. Armstrong C.M. Time course of TEA(+)-induced anomalous rectification in squid giant axons // *J. Gen. Physiol.* – 1966. – **50**, №2. – P. 491–503.
3. Beeler G.W., Reuter H. Reconstruction of the action potential of ventricular myocardial fibres // *J. Physiol.* – 1977. – **268**, №1. – P. 177–210.
4. Dodge F.A. A study of ionic permeability changes underlying excitation in myelinated nerve fibres of the frog. – New York: The Rockefeller University, 1963. – 120 p.
5. Furukawa T., Kimura S., Furukawa N., Bassett A.L., Myerburg R.J. Potassium rectifier currents differ in myocytes of endocardial and epicardial origin // *Circulat. Res.* – 1992. – **70**, №1. – P. 91–103.
6. Giles W.R., Imaizumi Y. Comparison of potassium currents in rabbit atrial and ventricular cells // *J. Physiol.* – 1988. – **405**, Nov. – P. 123–145.
7. Hemond P., Epstein D., Boley A., Migliore M., Ascoli G.A., Jaffe D.B. Distinct classes of pyramidal cells exhibit mutually exclusive firing patterns in hippocampal

- area CA3b // Hippocampus. – 2008. – **18**, №4. – P. 411–424.
8. Hines M.L., Carnevale N.T. The NEURON simulation environment // Neural Computation. – 1997. – **9**, №6. – P. 1179–1209.
 9. Hines M.L., Morse T., Migliore M., Carnevale N.T., Shepherd G.M. ModelDB: A Database to support computational neuroscience // J. Comp. Neurosci. – 2004. – **17**, №1. – P. 7–11.
 10. Hodgkin A.L., Huxley A.F. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve // J. Physiol. – 1952. – **117**, №4. – P. 500–544.
 11. Kiehn O., Eken T. Functional role of plateau potentials in vertebrate motor neurons // Curr. Opin. Neurobiol. – 1998. – **8**, №6. – P. 746–752.
 12. Korogod S.M., Novorodovskaya T.S. Impact of Geometrical Characteristics of the Organellar Store and Organelle-Free Cytosol on Intracellular Calcium Dynamics in the Dendrite: a Simulation Study // Neurophysiology/Neirofiziologiya. – 2009. – **41**, №1. – P. 16–27.
 13. Kulagina I.B., Korogod S.M., Horcholle-Bossavit G., Batini C., Tyc-Dumont S. The electro-dynamics of the dendritic space in Purkinje cells of the cerebellum // Arch. Ital. Biol. – 2007. – **145**, №. 3/4. – P. 211–233.
 14. Migliore M., Morse T.M., Davison A.P., Marengo L., Shepherd G.M., Hines M.L. ModelDB: making models publicly accessible to support computational neuroscience // Neuroinformatics. – 2003. – **1**, №1. – P. 135–139.
 15. Miyasho T., Takagi H., Suzuki H., Watanabe S., Inoue M., Kudo Y., Miyakawa H. Low-threshold potassium channels and a low-threshold calcium channel regulate Ca^{2+} spike firing in the dendrites of cerebellar Purkinje neurons: a modeling study // Brain Res. – 2001. – **891**, №1–2. – P. 106–115.

*Міжнарод. центр молекуляр. фізіології
(Дніпропетров. відділення) НАН України
E-mail: dnipro@biph.kiev.ua, kulagina_iryana@yahoo.com*

*Матеріал надійшов до
редакції 26.12.2011*