

УДК 616.8-092, 612.06, 612.82

## СРАВНЕНИЕ СПОНТАННОЙ И ВЫЗВАННОЙ АКТИВНОСТИ ПИРАМИДНЫХ КЛЕТОК ПОЛЯ CA1 И ГРАНУЛЯРНЫХ КЛЕТОК ЗУБЧАТОЙ ИЗВИЛИНЫ ГИППОКАМПА ПРИ УВЕЛИЧЕНИИ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛИЯ

© 2025 г. А. С. Галашин<sup>а</sup>, М. В. Конаков<sup>а</sup>, В. В. Дынник<sup>а, \*</sup>

<sup>а</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пушкино, 142290 Россия

\*e-mail: dynnik@rambler.ru

Поступила в редакцию 05.09.2024

После доработки 07.10.2024

Принята к публикации 08.10.2024

В работе исследовано влияние изменения концентрации внеклеточного калия ( $[K^+]_o$ ) на спонтанную и индуцированную ступенькой тока залповую (пачечную) активность глутаматергических нейронов гиппокампа мышей. Использован метод регистрации электрической активности пэтч-кламп в конфигурации «целая клетка». Показано, что увеличение  $[K^+]_o$  с 3 до 8.5 мМ (калиевая нагрузка): (1) вызывает появление спонтанной тонической и пейсмейкерной пачечной активности в пирамидных клетках поля CA1 (20 и 10% от общего числа клеток соответственно), но не приводит к появлению пейсмейкерных гранулярных клеток в зубчатой извилине (DG); (2) увеличивает индуцированную током пачечную активность пирамидных клеток поля CA1 и подавляет пачечную активность гранулярных клеток DG при всех значениях силы тока в диапазоне от 10 до 200 пА; (3) вызывает сдвиг вольт-амперных характеристик ( $I/V$ ) обоих типов клеток вправо, уменьшая потенциал реверсии  $E_{rev}$  и увеличивая наклон характеристик  $I/V$  (величины входящих токов) нейронов полей CA1 и DG в 2–3 и 4–5 раз соответственно (при потенциалах от –100 до –70 мВ); (4) оказывает противоположное действие на выходящие токи, вызывая достоверное увеличение тока в пирамидных клетках и уменьшение в гранулярных клетках (при потенциалах выше 0 мВ). Входящие и выходящие токи нейронов DG в 4–4.5 раза выше, чем нейронов CA1. Обсуждается возможное участие калий-активируемых и других калий-проводящих каналов в различных реакциях возбудимости глутаматергических нейронов поля CA1 и DG при калиевой нагрузке. Высокая чувствительность пирамидных клеток поля CA1 к калиевой нагрузке в сравнении с гранулярными клетками DG может играть важную роль в гипервозбуждении нейронных сетей при эпилептогенезе.

**Ключевые слова:** пэтч-кламп, пирамидные и гранулярные клетки, поле CA1 и зубчатая извилина гиппокампа, калиевая нагрузка, пейсмейкерные пирамидные клетки

DOI: 10.31857/S0233475525010069, EDN: utxjae

### ВВЕДЕНИЕ

Гипервозбудимость и синхронизация нейронных сетей являются важными признаками таких заболеваний, как эпилепсия, мигрень, болезнь Альцгеймера [1–5]. Однако молекулярные механизмы спонтанного возникновения, поддержания и завершения судорожной активности (иктогенеза) изучены недостаточно. На клеточном уровне гипервозбудимость характеризуется ионным дисбалансом, связанным с увеличением концентрации ионов калия ( $[K^+]_o$ ) в межклеточном пространстве, а также ионов натрия, кальция ( $[Ca^{2+}]_i$ ) и хлора ( $[Cl^-]_i$ ) в цитоплазме клеток мозга [4–6].

Современные представления о молекулярных механизмах патологической гипервозбудимости при эпилептогенезе включают калиевую, мембранную (клеточную), ГАМКергическую и синаптическую (сетевую) модели [4–8]. Эти механистические модели не исключают, а могут дополнять друг друга. В предложенной в 1970 году калиевой модели (potassium accumulation hypothesis) [8] причиной гипервозбудимости нейронных сетей считают рост  $[K^+]_o$ . Модель постулирует возникновение в нейронной сети положительной обратной связи (PFL), основанной на том, что увеличение  $[K^+]_o$  вызывает уменьшение равновесного калиевого потенциала ( $E_{rev}$ ), сдвигая потенциалы реверсии различных

калиевых токов вправо в соответствии с законом Нернста, что вызывает деполяризацию нейронов. Повышение возбудимости и увеличение частоты импульсной активности нейронов в свою очередь еще больше увеличивает  $[K^+]_o$ , что приводит к дальнейшему гипервозбуждению сети [8–10]. Эксперименты на животных и опыты *in vitro* свидетельствуют в пользу такого механизма [4–7, 9–12]. Однако калиевая модель не объясняет механизм спонтанного увеличения  $[K^+]_o$ .

Важным элементом развития эпилептиформной активности (SLE) и патологической гипервозбудимости сети при увеличении  $[K^+]_o$  является переход от тонических режимов к генерации устойчивых пачечных режимов (burst firing, BF) [1, 5, 13], для которых характерна генерация высокочастотных потенциалов действия на фоне плато деполяризации с амплитудой до 15–30 мВ [5, 12, 13].

В исходной мембранной (клеточной) модели [10, 14–17] доминирование возбуждения над торможением (усиление PFL) обусловлено появлением групп пейсмейкерных глутаматергических нейронов, способных в патологических условиях спонтанно генерировать BF-режимы (intrinsic burst firing cells, IBF cells) и приводить таким образом к активации сетей. Такие пейсмейкерные пирамидные клетки (PC) обнаружены в полях CA1–CA3 и субикулуме гиппокампа в моделях эпилептогенеза у животных [10, 15–18] и у пациентов с эпилепсией [19]. Число таких клеток (IBF PC) в поле CA1 гиппокампа крыс в процессе пилокарпин-индуцированного эпилептогенеза увеличивалось с 3–5 до 50% [18]. Очевидно, что объединение калиевой и мембранной моделей может обеспечить комбинированный эффект, основанный на прямом возбуждающем и опосредованном (через рост  $[K^+]_o$ ) действии пейсмейкерных клеток (IBF cells) на сеть.

Однако конфигурации токов, обеспечивающих устойчивое функционирование пейсмейкерных клеток в контрольных условиях и при эпилептогенезе, пока не установлены. Также недостаточно исследованы механизмы, обеспечивающие увеличение  $[K^+]_o$ . Возможное участие активируемых калием калий-проводящих каналов с входящим и выходящим выпрямлением (inward/outward rectifiers), двупоровых TWIK-каналов и других в регуляции гомеостаза  $[K^+]_o$  также не рассматривается. Некоторые авторы связывают рост  $[K^+]_o$  с нарушением  $K^+$ -буферной функции астроцитов [20], тогда как другие [21–24] объясняют рост  $[K^+]_o$  активацией калий-хлорного переносчика KCC2 пирамидных

нейронов избытком  $[Cl^-]_i$ , входящего через ГАМК<sub>A</sub>-зависимые каналы при активации быстрых тормозных ГАМК-интернейронов (IN). Однако остается открытым вопрос о триггерах (механизмах), вызывающих активацию IN в условиях *in vivo*. В работах, сочетающих экспериментальные исследования и анализ математических моделей, активацию IN вызывали блокатором калиевых каналов 4-аминопиридином (4-AP) [24] или фотостимуляцией срезов кортекса генетически модифицированных животных в присутствии 4-AP [23].

В отличие от исследований влияния калиевой нагрузки на спонтанную активность глутаматергических нейронов полей CA1 и CA3 изучение влияния  $[K^+]_o$  на возбудимость гранулярных клеток (GC) в зубчатой извилине (DG) ограничено несколькими работами. В работе [5] гиперактивация нейронных сетей в DG человека наблюдалась только при добавлении высокой концентрации KCl (10–12 мМ), приводящей к развитию деполяризационного блока в PC полей CA1 и CA3 гиппокампа животных. В более раннем исследовании [15] спонтанные BF-режимы в GC морской свинки регистрировались только после длительной инкубации срезов с 8 мМ KCl (более 60 мин) при электрической стимуляции молекулярного слоя или хилуса и при наличии 0.2 мМ  $Ca^{2+}$  или в отсутствие кальция в среде [15].

Поэтому задачей настоящей работы было сравнительное изучение влияния  $[K^+]_o$  на спонтанную и вызванную активность PC поля CA1 и GC DG гиппокампа здоровых мышей с регистрацией различных параметров электрической активности обоих типов нейронов при использовании одного протокола исследований и, в ряде экспериментов, на срезах гиппокампа одного животного.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все процедуры на животных выполнялись в соответствии с директивой ЕС 86/609/ЕЕС и были одобрены комитетом по этике Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН. Самцов мышей линии SHK в возрасте 5–10 недель содержали в одинаковых условиях в кондиционированных и проветриваемых помещениях при температуре 20–22°C (свет/темнота = 12 ч/12 ч).

**Подготовка срезов.** Эксперименты проводили на срезах мозга мышей линии SHK в возрасте 5–10 недель. Животных анестезировали диэтиловым эфиром и декапитировали, затем

извлеченный головной мозг погружали в охлажденный до 4°C раствор следующего состава: 1.25 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 87 mM  $\text{NaCl}$ , 2.5 mM  $\text{KCl}$ , 7 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.5 mM  $\text{CaCl}_2$ , 25 mM глюкозы, 25 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 75 mM сахарозы; pH 7.4, осмолярность  $335 \pm 5$  мОсм/л. Участок мозга, содержащий гиппокамп, нарезали на фронтальные срезы толщиной 300 мкм с помощью вибратора 5100mz (Campden Instruments, Великобритания). Полученные срезы помещали в раствор такого же состава, нагретый до 35–37°C. После 30-мин инкубации срезы переносили в нагретую до 35–37°C искусственную спинно-мозговую жидкость (ACSF) следующего состава: 126 mM  $\text{NaCl}$ , 3 mM  $\text{KCl}$ , 1.25 mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 1.25 mM  $\text{CaCl}_2$ , 26 mM  $\text{NaHCO}_3$ , 1.25 mM  $\text{MgSO}_4$ , 10 mM глюкозы; pH 7.4, осмолярность  $300 \pm 5$  мОсм/л. Сразу после этого инкубационную камеру извлекали из термостата, позволяя ACSF охладиться до комнатной температуры. Эксперименты начинали не менее, чем через 1 ч после данного этапа. Хранение срезов и электрофизиологические эксперименты осуществляли в растворе такого же состава. Все растворы предварительно насыщали смесью  $\text{O}_2$  и  $\text{CO}_2$  в соотношении 95% к 5%.

**Электрофизиологические записи и калиевая нагрузка.** Записи методом пэтч-кламп в конфигурации «целая клетка» (whole-cell patch clamp) проводили на визуально идентифицированных пирамидных клетках поля CA1 и зернистых клетках зубчатой извилины гиппокампа при постоянном протоке ACSF со скоростью 4–5 мл/мин при температуре 32°C. В экспериментах использовали установку SliceScope (Scientifica, Великобритания), оснащенную CCD-камерой, усилитель PC505B (Warner Instruments, США) и аналого-цифровой преобразователь Digidata 1440A (Molecular Devices, США). Сигнал регистрировали при частоте дискретизации 10 кГц и частоте фильтрации 2 кГц с помощью программного обеспечения pClamp 10.2 (Molecular Devices, США). Electrodes с сопротивлением 4–7 МОм получали из капилляров, изготовленных из боросиликатного стекла (Harvard Apparatus, Великобритания), на вертикальном пуллере PC-10 (Narishige, Япония) и заполняли раствором следующего состава: 120 mM калия глюконат, 3 mM  $\text{KCl}$ , 2 mM  $\text{Na}_2\text{-ATP}$ , 0.3 mM  $\text{Na}_2\text{-GTP}$ , 0.3 mM  $\text{Mg-ATP}$ , 10 mM  $\text{Na}_2\text{-фосфокреатин}$ , 1 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.25 mM EGTA, 4 mM HEPES; pH 7.2, осмолярность  $280 \pm 5$  мОсм/л.

Регистрацию контрольных параметров клетки начинали не менее чем через 10 мин после достижения конфигурации «целая клетка». Для выполнения калиевой нагрузки в ACSF добавляли

5.5 mM  $\text{KCl}$  и через 15 мин регистрировали параметры электрической активности клетки. Сопротивление доступа ( $R_a$ ) контролировали в течение всего эксперимента и поддерживали на уровне ниже 35 МОм. В анализ включали только клетки с потенциалом покоя отрицательнее –60 мВ в контрольных условиях.

**Анализ данных.** Протоколы определения электрофизиологических параметров составлены на основе данных, представленных в работе [25], с изменениями. Пассивные свойства мембраны определяли при потенциале, поддерживаемом на уровне –70 мВ. Сопротивление мембраны ( $R_m$ ) определяли как наклон прямой линии, аппроксимирующей зависимость между мембранным потенциалом и током, прикладываемым в виде ступенек длительностью 500 мс и силой от –80 до +20 пА с шагом 20 пА. Постоянную времени ( $\tau$ ) и емкость мембраны ( $C_m$ ) определяли по методике, представленной в работе [26], с изменениями. Постоянную времени определяли в начале ответа на стимул силой –200 пА с помощью биэкспоненциальной функции в промежутке между 10 и 95% от пика гиперполяризации. Полученные результаты экстраполировали до бесконечности и в соответствии с законом Ома рассчитывали экстраполированное сопротивление мембраны ( $R_{\text{exp}}$ ). Емкость мембраны определяли по формуле  $C_m = \tau / R_{\text{exp}}$ .

Для индукции залповой активности к клетке прилагали ступеньки тока длительностью 500 мс и силой от –40 до +200 пА относительно потенциала покоя с шагом 10 пА. Определяли количество потенциалов действия (ПД) в ответ на каждую из ступенек тока, а также пороговый ток ( $I_{\text{thr}}$ ), который определяли как минимальную силу тока, при которой возникал хотя бы один ПД. Потенциал покоя ( $V_m$ ) определяли в рамках этого же протокола при отсутствии стимуляции (0 пА).

Для определения вольт-амперной характеристики к клетке прилагали ступеньки потенциала длительностью 500 мс и величиной от –100 до +20 мВ относительно потенциала –70 мВ с шагом 10 мВ. Данные нормализовали по емкости мембраны.

Электрофизиологические данные обрабатывали с помощью собственных скриптов, разработанных на языке Python с использованием пакета ruabf [27].

**Статистический анализ.** Статистическую обработку данных проводили в GraphPad Prism 8.0 (GraphPad Software, США). Данные анализировали с помощью парного  $t$ -критерия, непарного

$t$ -критерия и двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с повторными измерениями (two-way repeated measures ANOVA) с апостериорным критерием Шидака. Значимыми считали различия при  $p < 0.05$ . Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего (SEM) при  $n = 30$ , где  $n$  — количество клеток.

**Реактивы.** В работе использовали реактивы Sigma (США) и Tocris (Великобритания).

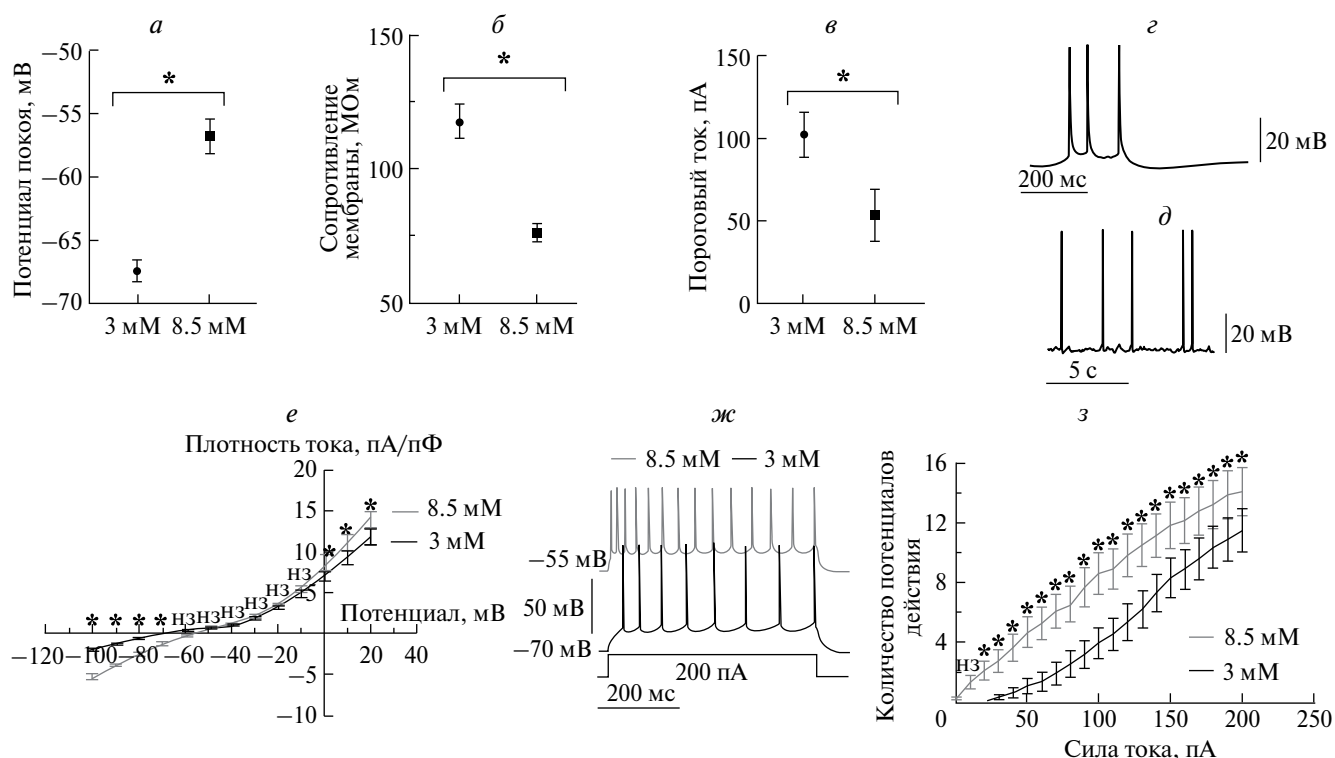
## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Влияние калиевой нагрузки на электрические характеристики пирамидных нейронов поля CA1.** На рис. 1 представлены данные, характеризующие влияние калиевой нагрузки на пассивные и активные электрические характеристики PC поля CA1. Данные, представленные на рис. 1а–1в, показывают, что увеличение  $[K^+]_o$  с 3 мМ до 8.5 мМ приводит к деполяризации клеток,

вызывая уменьшение потенциала покоя  $V_m$  ( $-68 \pm 1$  в сравнении с  $-57 \pm 1$  мВ), входного сопротивления мембраны  $R_m$  ( $117 \pm 6$  в сравнении с  $76 \pm 3$  МОм) и порогового тока  $I_{trh}$  ( $102 \pm 13$  в сравнении с  $53 \pm 16$  пА).

Увеличение  $[K^+]_o$  до 8.5 мМ также вызывает появление спонтанно-активных клеток. Репрезентативные записи тонической и пачечной активности представлены на рис. 1з и 1г соответственно. Доля спонтанно-активных клеток, генерирующих потенциалы действия (ПД) в тоническом режиме, составила 20% от общего числа клеток ( $n = 30$ ). Доля пейсмейкерных клеток (IBF PC), генерирующих спонтанные пачечные режимы (BF-режимы), составила 10% от общего числа клеток ( $n = 30$ ).

Калиевая нагрузка приводит также к сдвигу вольт-амперной характеристики ( $I/V$ ) вправо, уменьшая потенциал реверсии  $E_{rev}$  с  $-64 \pm 1$  до  $-54 \pm 1$  мВ (рис. 1е). Имеет место



**Рис. 1.** Электрофизиологические характеристики пирамидных нейронов поля CA1 при 3 мМ и 8.5 мМ KCl во внеклеточном растворе. а, б, в — Влияние повышенной концентрации ионов калия на потенциал покоя (а), сопротивление мембраны (б) и пороговый ток (в). г, д — Спонтанная (в отсутствие стимуляции) пачечная (г) и тоническая (д) активность при 8.5 мМ KCl. е — Вольт-амперные характеристики пирамидных нейронов поля CA1 при 3 мМ и 8.5 мМ KCl. Стимуляция от  $-100$  до  $+20$  мВ в течение 500 мс от исходного потенциала  $-70$  мВ. ж — Ответ пирамидных клеток на стимуляцию током силой  $+200$  пА в течение 500 мс относительно потенциала покоя при 3 мМ и 8.5 мМ KCl. з — Кривые зависимости количества потенциалов действия от силы стимуляции током (от 0 до  $+200$  пА в течение 500 мс относительно потенциала покоя). \*  $p < 0.05$ , нз — незначимо; а, б, в — парный  $t$ -критерий; е, з — двухфакторный анализ ANOVA с повторными измерениями ( $p < 0.0001$ ) и апостериорный критерий Шидака ( $p < 0.05$ ). Данные представлены как среднее  $\pm$  SEM.

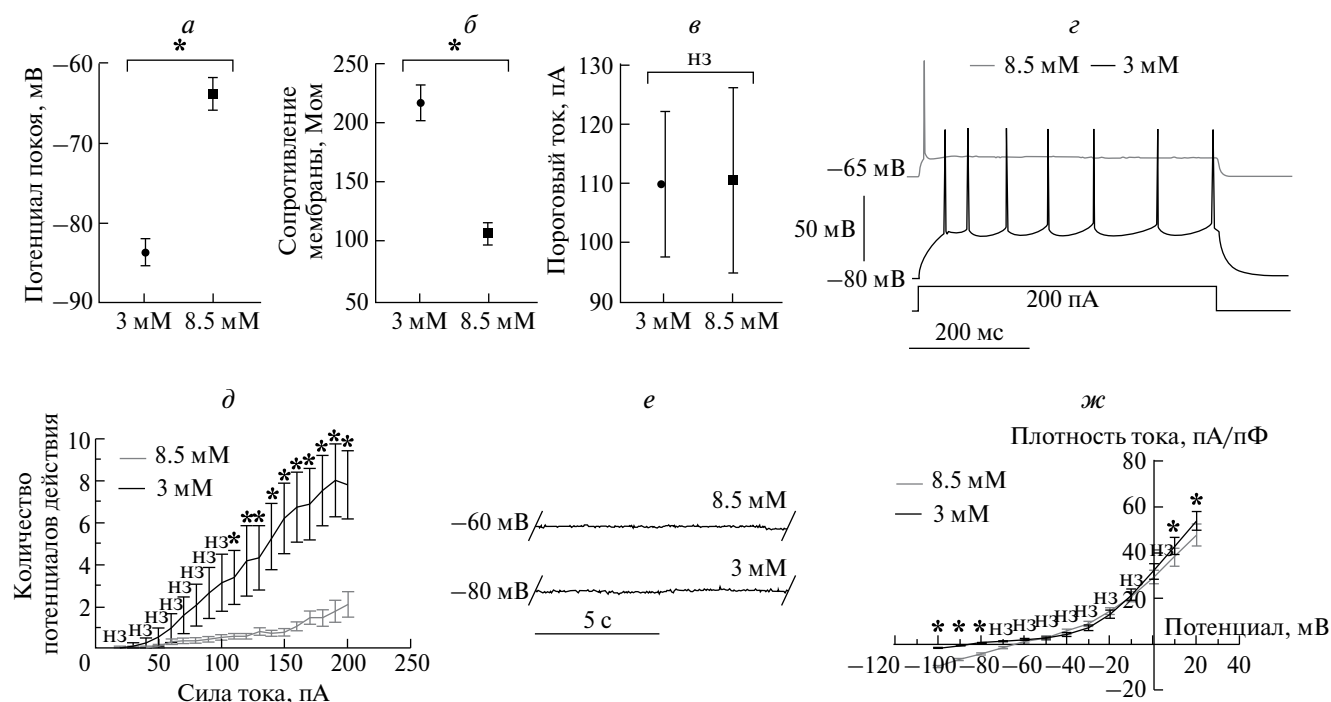
также активация калием интегрального входящего деполяризующего тока, который увеличивается в 2–3 раза (при потенциалах от  $-100$  до  $-70$  мВ), и достоверное увеличение выходящего тока при потенциалах выше  $0$  мВ (апостериорный критерий Шидака,  $p < 0.05$ ).

Влияние изменения  $[K^+]_o$  на вызванную активность в РС представлено на рис. 1ж и 1з. На рис. 1ж показаны репрезентативные записи потенциации пачечной активности РС ступенькой тока ( $I$ ) силой  $200$  пА и длительностью  $500$  мс при наличии  $3$  мМ или  $8.5$  мМ калия в среде. Видно, что калиевая нагрузка приводит к увеличению количества ( $N$ ) ПД в период действия деполяризующего тока, что характеризует степень возбудимости РС. Кроме того, заметно наличие аккомодации (увеличение интервала времени между последовательными ПД), которая является свойством глутаматергических нейронов. Интегральные входные характеристики, описывающие зависимость количества генерируемых

ПД от силы тока ( $N = F(I)$ ), представлены на рис. 1з. Из сравнения кривых на этом рисунке следует, что во всем диапазоне стимуляции деполяризующим током (от  $10$  до  $200$  пА) имеет место значимая потенциация калием вызванной пачечной активности пирамидных клеток поля CA1 (апостериорный критерий Шидака,  $p < 0.05$ ).

Групповой анализ (двухфакторный анализ ANOVA с повторными измерениями) показал значимое взаимодействие двух пар исследуемых параметров — ступеньки тока и внеклеточной концентрации калия (рис. 1з,  $p < 0.0001$ ), а также ступеньки потенциала и внеклеточной концентрации калия (рис. 1е,  $p < 0.0001$ ) в пирамидных клетках поля CA1.

**Влияние калиевой нагрузки на электрические характеристики гранулярных нейронов DG.** На рис. 2 представлены данные, характеризующие влияние калиевой нагрузки на пассивные и активные электрические характеристики GC в DG. Результаты, представленные



**Рис. 2.** Электрофизиологические характеристики зернистых нейронов зубчатой извилины при  $3$  мМ и  $8.5$  мМ KCl во внеклеточном растворе. а, б, в — Влияние повышенной концентрации ионов калия на потенциал покоя (а), сопротивление мембраны (б) и пороговый ток (в). з — Ответ зернистых клеток на стимуляцию током силой  $+200$  пА в течение  $500$  мс относительно потенциала покоя при  $3$  мМ и  $8.5$  мМ KCl. з — Кривые зависимости количества потенциалов действия от силы стимуляции током (от  $0$  до  $+200$  пА в течение  $500$  мс относительно потенциала покоя). е — Отсутствие спонтанной (в отсутствие стимуляции) активности в клетках DG при  $3$  мМ и  $8.5$  мМ KCl. ж — Вольт-амперные характеристики зернистых нейронов зубчатой извилины при  $3$  мМ и  $8.5$  мМ KCl. Стимуляция от  $-100$  до  $+20$  мВ в течение  $500$  мс от исходного потенциала  $-70$  мВ. \*  $p < 0.05$ , нз — незначимо; а, б, в — парный  $t$ -критерий; д, ж — двухфакторный анализ ANOVA с повторными измерениями ( $p < 0.0001$ ) и апостериорный критерий Шидака ( $p < 0.05$ ). Данные представлены как среднее  $\pm$  SEM.

на рис. 2а–2в показывают, что увеличение  $[K^+]_o$  с 3 мМ до 8.5 мМ приводит к деполяризации GC, вызывая уменьшение потенциала покоя  $V_m$  ( $-84 \pm 2$  в сравнении с  $-64 \pm 2$  мВ) и входного сопротивления мембраны  $R_m$  ( $217 \pm 15$  в сравнении с  $106 \pm 9$  МОм). Изменения величины порогового тока  $I_{th}$  статистически недостоверны ( $110 \pm 12$  в сравнении с  $111 \pm 16$  пА). В отличие от нейронов поля CA1 увеличение  $[K^+]_o$  до 8.5 мМ не приводит к появлению спонтанно-активных клеток в DG.

Как и в нейронах зоны CA1, калиевая нагрузка приводит к сдвигу вольт-амперной характеристики гранулярных клеток вправо, уменьшая потенциал реверсии  $E_{rev}$  с  $-79 \pm 2$  до  $-62 \pm 2$  мВ (рис. 2ж). Также наблюдается активация калием интегрального входящего деполяризующего тока, который увеличивается в 4–5 раз (при потенциалах от  $-100$  до  $-70$  мВ), тогда как выходящий ток достоверно уменьшается при потенциалах выше 0 мВ (апостериорный критерий Шидака,  $p < 0.05$ ).

Влияние изменения  $[K^+]_o$  на вызванную активность в GC представлено на рис. 2г и 2д. На рис. 2г показаны репрезентативные записи индукции пачечной активности GC ступенькой тока силой 200 пА и длительностью 500 мс при наличии 3 и 8.5 мМ калия в среде. Входные характеристики  $N = F(I)$  представлены на рис. 2д. При 3 мМ калия в среде увеличение силы тока от 10 до 200 пА приводит к увеличению количества ПД до 8–10 в период действия деполяризующего тока. Однако калиевая нагрузка парадоксальным образом подавляет вызванную пачечную активность глутаматергических нейронов DG. Сильное подавление имеет место при ступеньках тока больше 100 пА ( $p < 0.05$ ).

Групповой анализ также показал значимое взаимодействие двух пар исследуемых параметров — ступеньки тока и внеклеточной концентрации калия (рис. 2д,  $p < 0.0001$ ), а также ступеньки потенциала и внеклеточной концентрации калия (рис. 2ж,  $p < 0.0001$ ) в гранулярных клетках зубчатой извилины.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Сходство и различие ряда электрических характеристик глутаматергических нейронов поля CA1 и DG

1. Сравнение данных, представленных на рис. 1а и 2а, указывает на более выраженную гиперполяризацию и устойчивость к действию калия

нейронов DG в сравнении с нейронами поля CA1. Увеличение  $[K^+]_o$  с 3 мМ до 8.5 мМ приводит к деполяризации клеток, вызывая уменьшение потенциала покоя ( $V_m$ ) PC ( $-67 \pm 1$  в сравнении с  $-57 \pm 1$  мВ;  $p < 0.05$ ) и GC ( $-84 \pm 2$  в сравнении с  $-67 \pm 1$  мВ;  $p < 0.05$ ). Однако  $V_m$  гранулярных клеток при 3 мМ калия в среде (контроль) достоверно больше  $V_m$  пирамидных клеток ( $-83 \pm 2$  в сравнении с  $-67 \pm 1$  мВ;  $p < 0.05$ ), что свидетельствует о меньшей возбудимости клеток DG. При калиевой нагрузке GC деполяризовались на  $20 \pm 1$  мВ, а PC на  $11 \pm 1$  мВ ( $p < 0.05$ ). Однако в GC абсолютная величина  $V_m$  при калиевой нагрузке была больше, чем в PC ( $-64 \pm 2$  в сравнении с  $-57 \pm 1$  мВ). Это может уменьшать вероятность возникновения спонтанной активности при увеличении  $[K^+]_o$ .

2. В отличие от нейронов DG калиевая нагрузка приводит к появлению спонтанно-активных клеток в поле CA1, включая пейсмейкерные клетки (IBF cells), генерирующие спонтанные пачечные режимы (BF-режимы, рис. 1г). Доля таких клеток в поле CA1 при  $[K^+]_o$  8.5 мМ составила 10% от общего числа клеток ( $n = 30$ ). SLE и BF-режимы наблюдались ранее в полях CA1 и CA3 и субикулуме, а также в клетках неокортекса крыс при 8–9 мМ  $[K^+]_o$  в среде [5, 12, 13, 16], при 5 мМ  $[K^+]_o$  и 0.2 мМ  $[Ca^{2+}]_o$  или в отсутствие кальция в среде [28]. В ряде таких экспериментов использовалась также электрическая стимуляция различных зон гиппокампа. В гранулярных клетках DG такие пачечные режимы наблюдали при электрической стимуляции молекулярного слоя или хилуса при наличии 8 мМ  $[K^+]_o$  и 0.2 мМ  $[Ca^{2+}]_o$  или в отсутствие кальция в среде при 2.5 мМ  $[K^+]_o$  [15]. В наших экспериментах пейсмейкерные клетки в DG не обнаружены. Это может быть связано с малым размером выборки ( $n = 20$ ), с отсутствием электрической стимуляции срезов, с использованием стандартных концентраций ионов в средах и более низкой возбудимостью клеток DG.

3. Для определения вольт-амперной характеристики использовали ступеньки потенциала длительностью 500 мс, что позволяло регистрировать медленные компоненты преимущественно калиевых токов. Из рис. 1е и 2ж видно, что калиевая нагрузка вызывает сдвиг вольт-амперных характеристик ( $I/V$ ) обоих типов клеток вправо, уменьшая потенциал реверсии  $E_{rev}$  и увеличивая наклон характеристик  $I/V$  в 2–3 и 4–5 раз в PC и GC соответственно (при потенциалах от  $-100$  до  $-70$  мВ;  $p < 0.05$ ). Изменение наклона характеристик  $I/V$  свидетельствует об активации интегрального входящего деполяризующего тока

калием. Подобный эффект калиевой нагрузки мы наблюдали ранее на изолированных кардиомиоцитах крыс [29]. Влияние калия на выходящие калиевые токи выражено слабее. Рост  $[K^+]_o$  оказывает противоположное действие на клетки поля CA1 и DG, вызывая достоверное увеличение выходящего тока в PC и уменьшение в GC (при потенциалах выше 0 мВ,  $p < 0.05$ ). Важно отметить, что величины входящих и выходящих токов в GC в 4–4.5 раза выше, чем PC, при всех величинах потенциала в диапазоне от –100 до +20 мВ как при 3 мМ, так и при 8.5 мМ калия в среде (рис. 1е и 2ж). В пирамидных клетках активация токов калием выражена слабее, чем в гранулярных клетках (при –100 мВ плотность тока при 3 и 8.5 мМ  $[K^+]_o$  составила соответственно  $-2.0 \pm 0.2$  и  $-5.3 \pm 0.3$  пА/пФ в PC и  $-1.6 \pm 0.2$  и  $-9.6 \pm 0.8$  пА/пФ в GC; рис. 1е и 2ж).

Активация интегрального тока калием ( $[K^+]_o$ ) может быть связана с активацией калием калий-проводящих каналов с входящим и выходящим выпрямлением, включая HCN ( $I_h$ -ток),  $K_{ir2.x}$  ( $I_{K1}$ -ток) и hERG ( $K_{v11.x}$ ,  $I_{Kr}$ -ток). Такая активация хорошо известна, однако не принимается во внимание до сих пор. В работах [30–35] показано, что рост концентрации  $[K^+]_o$  увеличивает наклон характеристик  $I/V$  для входящих  $I_h$ -,  $I_{K1}$ - и  $I_{Kr}$ -токов и увеличивает соответствующие выходящие токи. Для калий-проводящего двупорового канала ( $K_{2p}$ , TWIK-1,  $I_{2p}$ -ток), не активируемого калием, в соответствии с законом Нернста будет происходить только сдвиг характеристики  $I/V$  вправо, вносящий вклад в увеличение входящего и уменьшение выходящего калиевого тока. При высокой активности каналов TWIK-1 в гранулярных клетках активация калием выходящих  $I_h$ -,  $I_{K1}$ - и  $I_{Kr}$ -токов может быть компенсирована снижением  $I_{2p}$ -тока, приводящим к уменьшению интегрального выходящего тока в сравнении с контролем (рис. 2ж). Мы также полагаем, что выходящий ток, опосредуемый неселективными HCN-каналами, должен быть калиевым.

Калий-активируемый выход калия соответствует формированию в системе нейрон–среда положительной обратной связи PFL (PFL1:  $K^+_o \rightarrow HCN \rightarrow K^+_o$ ; PFL2:  $K^+_o \rightarrow K_{ir2.x} \rightarrow K^+_o$ ; PFL3:  $K^+_o \rightarrow hERG \rightarrow K^+_o$ ). И наоборот, активация входящих токов приводит к возникновению соответствующих отрицательных обратных связей (NFL1–3).

4. Вызванная активность клеток обоих типов при 3 мМ калия в среде имеет сходный характер. Увеличение силы деполяризующего тока ( $I$ )

приводит к увеличению количества вызванных потенциалов действия ( $N$ ), что вполне согласуется с данными ряда исследований, проведенных на клетках разных типов. Соответствующие входные характеристики  $N = F(I)$  представлены на рис. 1з и 2д. Калиевая нагрузка потенцирует эффект деполяризующего тока в клетках поля CA1. Однако увеличение  $[K^+]_o$  до 8.5 мМ приводит к обратному эффекту в DG, вызывая подавление вызванной активности гранулярных клеток.

Возможно наличие нескольких не исключających друг друга механизмов, обеспечивающих различную чувствительность клеток CA1 и DG к калию.

1. ГАМК-тон. Активация калием ГАМК-интернейронов может приводить к ингибированию глутаматергических нейронов с участием ГАМК<sub>A</sub>- и ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов. Известно, что тоническое ингибирование, опосредованное ионотропными ГАМК<sub>A</sub>-рецепторами, в DG выражено значительно сильнее, чем в поле CA1 [36]. Не исключено также тоническое ингибирование с участием метаботропных ГАМК<sub>B</sub>-рецепторов, активация которых приводит к активации калиевых каналов  $K_{ir3.x}$  (GIRK) и ингибированию кальциевых каналов N-типа. Активатор этих рецепторов габапентин используется как антиконвульсант [37].

2. Активация калий-проводящих каналов HCN,  $K_{ir2.x}$ , hERG и TWIK-1. Хорошо известно, что блокада этих каналов приводит к увеличению импульсной активности нейронов разных типов, включая глутаматергические клетки полей CA1–3 и DG [12, 38–40]. Одновременная блокада HCN и  $K_{ir2.x}$  в GC DG демонстрирует синергичный эффект [40]. Интегральные калиевые входящие и выходящие токи нейронов DG выше, чем клеток CA1, в 4–4.5 раза (рис. 1е и 2ж). Поэтому можно предположить, что активация калием перечисленных выше каналов (усиление NFL) будет приводить к подавлению вызванной пачечной (залповой) активности GC в условиях калиевой нагрузки.

3. Деполяризационный блок. Подавление импульсной активности и развитие деполяризационного блока можно вызвать увеличением силы деполяризующего тока [41] или концентрации калия во внеклеточной среде до 10–12 мМ [12, 28]. Анализ математических моделей показывает, что решение не является однозначным. В развитии деполяризационного блока могут участвовать различные комбинации калиевых и натриевых токов [41].



### Пеймейкерные клетки и пачечные режимы

Вовлечение HCN-каналов в генерацию BF-режимов и развитие деполяризационного блока показано в работе [12]. Важная роль персистирующего (постоянного) натриевого тока  $I_{NaP}$ , опосредуемого каналом  $Na_v1.2$ , в генерации таких режимов показана в работе [28]. Важно отметить, что каналы  $Na_v1.x$ , так же как и каналы HCN,  $K_{ir2.x}$  и hERG, активируются внеклеточным калием [11]. Активация входящего натриевого тока  $I_{NaP}$  калием эквивалентна увеличению деполяризующего тока в экспериментах на срезах. В большинстве математических моделей, описывающих пеймейкерную активность нейронов, учитываются проводимости  $g_{NaP}$  и  $g_h$  и  $g_{K1}$ , соответствующие входящим токам  $I_{NaP}$ ,  $I_h$  и  $I_{K1}$  [23, 24, 41]. Активация калием выходящих калиевых токов и тока  $I_{NaP}$  (PFL) не принимается во внимание. Вопрос о конфигурациях токов, обеспечивающих пеймейкерную активность и BF-режимы, остается открытым ввиду неоднозначности решения. В работе [42] проведено сравнение BF-режимов в модели, учитывающей 8 проводимостей  $g_i$ . Показано, что одинаковые BF-режимы наблюдаются в модели при вариации величин  $g_{imax}$  на порядок, то есть при разных конфигурациях входящих и выходящих токов в системе.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рост калия в межклеточном пространстве можно рассматривать как причину и как следствие гиперактивации нейронных сетей. На данном, предварительном этапе исследований мы предполагаем, что активация внеклеточным калием калий-проводящих каналов с входящим и выходящим выпрямлением (HCN,  $K_{ir2.x}$ , hERG) может быть причиной роста калия в межклеточном пространстве (выходящее выпрямление). В комбинации с активацией каналов  $Na_v1.x$  активация калием каналов HCN,  $K_{ir2.x}$ , hERG может играть важную роль в генерации BF-режимов и гиперактивации сетей (формирование PFL). Различия в экспрессии этих и других каналов в клетках поля CA1 (или CA3) и DG могут объяснить сходство и различие ответов глутаматергических нейронов на различные воздействия и обеспечить известную различную устойчивость поля CA1 и DG при индукции эпилептогенеза каиновой кислотой, пилокарпином и другими веществами. Необходимы дальнейшие сравнительные исследования свойств РС и GC в норме и при эпилептогенезе с использованием методов электрофизиологии, молекулярной биологии,

фармакологического анализа и математического моделирования.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

**Источники финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания № 075-00224-24-03 (FFRS-2024-0013) Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН (ИТЭБ РАН).

**Соответствие принципам этики.** Исследование проводилось в соответствии с этическими принципами, сформулированными в Хельсинкской декларации по использованию лабораторных животных. Все процедуры на животных были одобрены комитетом по этике ИТЭБ РАН (протокол 29/2024, 18 марта 2024 г.).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Shao J., Liu Y., Gao D., Tu J., Yang F. 2021. Neural Burst Firing and Its Roles in Mental and Neurological Disorders. *Front. Cell. Neurosci.*, **15**, 741292. doi 10.3389/fncel.2021.741292
2. Targa Dias Anastacio H., Matosin N., Ooi L. 2022. Neuronal hyperexcitability in Alzheimer's disease: what are the drivers behind this aberrant phenotype? *Transl. Psychiatry*, **12**, 257. doi 10.1038/s41398-022-02024-7
3. Telias M., Segal M. 2022. Editorial: Pathological hyperactivity and hyperexcitability in the central nervous system. *Front. Mol. Neurosci.*, **15**, 955542. doi 10.3389/fnmol.2022.955542
4. Raimondo J.V., Burman R.J., Katz A.A., Akerman C.J. 2015. Ion dynamics during seizures. *Front. Cell. Neurosci.*, **9**, 419. doi 10.3389/fncel.2015.00419
5. Antonio L.L., Anderson M.L., Angamo E.A., Gabriel S., Klafit Z.-J., Liotta A., Salar S., Sandow N., Heinemann U. 2016. In vitro seizure like events and changes in ionic concentration. *J. Neurosci. Methods*, **260**, 33–44. doi 10.1016/j.jneumeth.2015.08.014
6. Rasmussen R., O'Donnell J., Ding F., Nedergaard M. 2020. Interstitial ions: A key regulator of state-dependent neural activity? *Prog. Neurobiol.*, **193**, 101802. doi 10.1016/j.pneurobio.2020.101802
7. de Curtis M., Uva L., Gnatkovsky V., Librizzi L. 2018. Potassium dynamics and seizures: Why is potassium ictogenic? *Epilepsy Res.*, **143**, 50–59. doi 10.1016/j.epilepsyres.2018.04.005
8. Fetzinger A.P., Ranck J.B. 1970. Potassium accumulation in interstitial space during epileptiform seizures. *Exp. Neurol.*, **26**, 571–585. doi 10.1016/0014-4886(70)90150-0
9. Zuckermann E.C., Glaser G.H. 1968. Hippocampal epileptic activity induced by localized ventricular



- perfusion with high-potassium cerebrospinal fluid. *Exp. Neurol.* **20**, 87–110. doi 10.1016/0014-4886(68)90126-x
10. Traynelis S.F., Dingledine R. 1988. Potassium-induced spontaneous electrographic seizures in the rat hippocampal slice. *J. Neurophysiol.* **59**, 259–276. doi 10.1152/jn.1988.59.1.259
  11. Somjen G.G., Müller M. 2000. Potassium-induced enhancement of persistent inward current in hippocampal neurons in isolation and in tissue slices. *Brain Res.* **885**, 102–110. doi 10.1016/S0006-8993(00)02948-6
  12. Wang L., Dufour S., Valiante T.A., Carlen P.L. 2016. Extracellular Potassium and Seizures: Excitation, Inhibition and the Role of Ih. *Int. J. Neural. Syst.* **26**, 1650044. doi 10.1142/S0129065716500441
  13. Liotta A., Caliskan G., ul Haq R., Hollnagel J.O., Rösler A., Heinemann U., Behrens C.J. 2011. Partial disinhibition is required for transition of stimulus-induced sharp wave-ripple complexes into recurrent epileptiform discharges in rat hippocampal slices. *J. Neurophysiol.* **105**, 172–187. doi 10.1152/jn.00186.2010
  14. Hablitz J.J., Johnston D. 1981. Endogenous nature of spontaneous bursting in hippocampal pyramidal neurons. *Cell. Mol. Neurobiol.* **1**, 325–334. doi 10.1007/BF00716267
  15. Pan E., Stringer J.L. 1997. Role of potassium and calcium in the generation of cellular bursts in the dentate gyrus. *J. Neurophysiol.* **77**, 2293–2299. doi 10.1152/jn.1997.77.5.2293
  16. Jensen M.S., Yaari Y. 1997. Role of intrinsic burst firing, potassium accumulation, and electrical coupling in the elevated potassium model of hippocampal epilepsy. *J. Neurophysiol.* **77**, 1224–1233. doi 10.1152/jn.1997.77.3.1224
  17. Lee-Liu D., Gonzalez-Billault C. 2021. Neuron-intrinsic origin of hyperexcitability during early pathogenesis of Alzheimer's disease: An Editorial Highlight for 'Hippocampal hyperactivity in a rat model of Alzheimer's disease' on <https://doi.org/10.1111/jnc.15323>. *J. Neurochem.*, **158**, 586–588. doi 10.1111/jnc.15248
  18. Sanabria E.R., Su H., Yaari Y. 2001. Initiation of network bursts by Ca<sup>2+</sup>-dependent intrinsic bursting in the rat pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J. Physiol.*, **532**, 205–216. doi 10.1111/j.1469-7793.2001.0205g.x
  19. Hofer K.T., Kandrás Á., Tóth K., Hajnal B., Bokodi V., Tóth E.Z., Erőss L., Entz L., Bagó A.G., Fabó D., Ulbert I., Wittner L. 2022. Bursting of excitatory cells is linked to interictal epileptic discharge generation in humans. *Sci. Rep.*, **12**, 6280. doi 10.1038/s41598-022-10319-4
  20. David Y., Cacheaux L.P., Ivens S., Lapilover E., Heinemann U., Kaufer D., Friedman A. 2009. Astrocytic dysfunction in epileptogenesis: Consequence of altered potassium and glutamate homeostasis? *J. Neurosci.* **29**, 10588–10599. doi 10.1523/JNEUROSCI.2323-09.2009
  21. de Curtis M., Librizzi L., Uva L. 2006. In Vitro Isolated Guinea Pig Brain. In: *Models of Seizures and Epilepsy*. Academic Press Inc., p. 103–109.
  22. Fröhlich F., Bazhenov M., Iragui-Madoz V., Sejnowski T.J. 2008. Potassium dynamics in the epileptic cortex: New insights on an old topic. *Neuroscientist.* **14**, 422–433. doi 10.1177/1073858408317955
  23. González O.C., Shiri Z., Krishnan G.P., Myers T.L., Williams S., Avoli M., Bazhenov M. 2018. Role of KCC2-dependent potassium efflux in 4-Aminopyridine-induced Epileptiform synchronization. *Neurobiol. Dis.* **109**, 137–147. doi 10.1016/j.nbd.2017.10.011
  24. Gentiletti D., de Curtis M., Gnatkovsky V., Suffczynski P. 2022. Focal seizures are organized by feedback between neural activity and ion concentration changes. *Elife.* **11**, e68541. doi 10.7554/eLife.68541
  25. Nenov M.N., Tempia F., Denner L., Dineley K.T., Laezza F. 2015. Impaired firing properties of dentate granule neurons in an Alzheimer's disease animal model are rescued by PPAR $\gamma$  agonism. *J. Neurophysiol.* **113** (6), 1712–26. doi 10.1152/jn.00419.2014
  26. Tamagnini F., Scullion S., Brown J.T., Randall A.D. 2015. Intrinsic excitability changes induced by acute treatment of hippocampal CA1 pyramidal neurons with exogenous amyloid  $\beta$  peptide. *Hippocampus.* **25** (7), 786–97. doi 10.1002/hipo.22403
  27. Harden S.W. pyABF: A pure-Python ABF file reader. URL: <https://pypi.org/project/pyabf/> [date accessed: 05.05.2024]
  28. Bikson M., Hahn P.J., Fox J.E., Jefferys J. 2003. Depolarization block of neurons during maintenance of electrographic seizures. *J. Neurophysiol.* **90** (4), 2402–8. doi 10.1152/jn.00467.2003
  29. Averin A.S., Konakov M.V., Pimenov O.Y., Galimova M.H., Berezhnov A.V., Nenov M.N., Dynnik V.V. 2022. Regulation of papillary muscle contractility by NAD and ammonia interplay: Contribution of ion channels and exchangers. *Membranes (Basel).* **12** (12), 1239. doi 10.3390/membranes12121239
  30. Yamashita T., Horio Y., Yamada M., Takahashi N., Kondo C., Kurachi Y. 1996. Competition between Mg<sup>2+</sup> and spermine for a cloned IRK2 channel expressed in a human cell line. *J. Physiol.* **493** (Pt 1), 143–156. doi 10.1113/jphysiol.1996.sp021370
  31. Ishihara K., Ehara T. 1998. A repolarization-induced transient increase in the outward current of the inward rectifier K<sup>+</sup> channel in guinea-pig cardiac myocytes. *J. Physiol.* **510** (Pt 3), 755–771. doi 10.1111/j.1469-7793.1998.755bj.x
  32. Dhamoon A.S., Pandit S.V., Sarmast F., Parisian K.R., Guha P., Li Y., Bagwe S., Taffet S.M., Anumonwo J.M.B. 2004. Unique Kir2.x properties determine regional and species differences in the cardiac inward rectifier K<sup>+</sup> current. *Circ. Res.* **94**, 1332–1339. doi 10.1161/01.RES.0000128408.66946.67
  33. McCormick D.A., Pape H.C. 1990. Properties of a hyperpolarization-activated cation current and its

- role in rhythmic oscillation in thalamic relay neurones. *J. Physiol.* **431**, 291–318. doi 10.1113/jphysiol.1990.sp018331
34. Azene E.M., Xue T., Li R.A. 2003. Molecular basis of the effect of potassium on heterologously expressed pacemaker (HCN) channels. *J. Physiol.* **547**, 349–356. doi 10.1113/jphysiol.2003.039768
  35. Nuss H.B., Marbán E., Johns D.C. 1999. Overexpression of a human potassium channel suppresses cardiac hyperexcitability in rabbit ventricular myocytes. *J. Clin. Invest.* **103**, 889–896. doi 10.1172/JCI5073
  36. Arima-Yoshida F., Watabe A.M., Manabe T. 2011. The mechanisms of the strong inhibitory modulation of long-term potentiation in the rat dentate gyrus. *Eur. J. Neurosci.* **33** (9), 1637–1646. doi 10.1111/j.1460-9568.2011.07657.x
  37. Bertrand S., Nouel D., Morin F., Nagy F., Lacaille J.-C. 2003. Gabapentin actions on Kir3 currents and N-type Ca<sup>2+</sup> channels via GABAB receptors in hippocampal pyramidal cells. *Synapse.* **50** (2), 95–109. doi 10.1002/syn.10247
  38. Yarishkin O., Lee D.Y., Kim E., Cho C.-H., Choi J.H., Lee C.J., Hwang E.M., Park J.-Y. 2014. TWIK-1 contributes to the intrinsic excitability of dentate granule cells in mouse hippocampus. *Mol. Brain.* **7**, 80. doi 10.1186/s13041-014-0080-z
  39. Bauer C.K., Schwarz J.R. 2018. Ether-à-Go-Go K<sup>+</sup> channels: Effective modulators of neuronal excitability. *J. Physiol.* **596** (5), 769–783. doi 10.1113/JP275477
  40. Mishra P., Narayanan R. 2021. Ion-channel degeneracy: Multiple ion channels heterogeneously regulate intrinsic physiology of rat hippocampal granule cells. *Physiol. Rep.* **9**, e14963. doi 10.14814/phy2.14963
  41. Bianchi D., Marasco A., Limongiello A., Marchetti C., Marie H., Tirozzi B., Migliore M. 2012. On the mechanisms underlying the depolarization block in the spiking dynamics of CA1 pyramidal neurons. *J. Comput. Neurosci.* **33** (2), 207–25. doi 10.1007/s10827-012-0383-y
  42. Goaillard J.-M., Marder E. 2021. Ion channel degeneracy, variability, and covariation in neuron and circuit resilience. *Annu. Rev. Neurosci.* **44**, 335–357. doi 10.1146/annurev-neuro-092920-121538

## Comparison of Spontaneous and Evoked Activity of CA1 Pyramidal Cells and Dentate Gyrus Granule Cells of the Hippocampus at an Increased Extracellular Potassium Concentration

A. S. Galashin<sup>1</sup>, M. V. Konakov<sup>1</sup>, V. V. Dynnik<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 142290 Russia*

\*e-mail: dynnik@rambler.ru

We studied the effect of changing extracellular potassium concentration ( $[K^+]_o$ ) on spontaneous and evoked burst activity of glutamatergic neurons in the mouse hippocampus using whole-cell patch clamp. We show that increasing  $[K^+]_o$  from 3 to 8.5 mM (potassium load) induced spontaneous tonic (1) and pacemaker burst (2) activity of CA1 pyramidal cells (20% and 10% of the total number of cells, respectively). In contrast to CA1, potassium loading did not lead to the appearance of pacemaker granule cells in the dentate gyrus (DG). Similarly, potassium load increased the evoked burst activity of CA1 pyramidal cells and, paradoxically, suppressed the burst activity of DG granule cells over the entire range of current steps from 10 to 200 pA. Potassium load shifted the current-voltage characteristics to the right and substantially increased inward currents in CA1 and DG cells. Inward and outward currents of DG neurons were 4–4.5 times as high as those of CA1 cells. The possible involvement of potassium-activated potassium-conducting channels is discussed in the bimodal effect of potassium load on the excitability of CA1 and DG glutamatergic neurons. Our results suggest that CA1 pyramidal cells may be more sensitive to potassium load than DG granule cells, which may play a role in hyperexcitation of neural networks during epileptogenesis.

**Keywords:** patch clamp, pyramidal and granule cells, CA1 field and dentate gyrus of the hippocampus, potassium load, pacemaker pyramidal cells