

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ
НАН БЕЛАРУСИ»**

УДК 577.352.5: 577.352.52

БУЛАЙ
Павел Михайлович

**МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ
ЭЛЕКТРИЧЕСКИХ СИГНАЛОВ НЕЙРОНАМИ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук
по специальности 03.01.02 – биофизика

Минск, 2012

Работа выполнена в Белорусском государственном университете

Научный руководитель: **Черенкевич Сергей Николаевич**,
доктор биологических наук, профессор, академик
НАН Беларуси, заведующий кафедрой биофизики
физического факультета Белорусского государ-
ственного университета

Официальные оппоненты: **Вересов Валерий Гаврилович**,
доктор биологических наук, ведущий научный
сотрудник лаборатории биофизики и инженерии
клетки ГНУ «Институт биофизики и клеточной
инженерии НАН Беларуси»

Стрекаль Наталья Дмитриевна,
кандидат физико-математических наук, доцент
кафедры общей физики физико-технического фа-
культета УО «Гродненский государственный
университет имени Янки Купалы»

Оппонирующая организация: ГНУ «Институт физики имени Б.И. Степанова
НАН Беларуси»

Защита состоится «14» декабря 2012 г. в 14-00 на заседании Совета по защите
диссертаций Д 01.37.01 в ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии
НАН Беларуси» по адресу: 220072, г. Минск, ул. Академическая, 27. Телефон
ученого секретаря: 284-28-88; факс 284-23-59; e-mail: pshybytko@ibp.org.by

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГНУ «Институт биофизики
и клеточной инженерии НАН Беларуси»

Автореферат разослан «13» ноября 2012 г.

Ученый секретарь
Совета по защите диссертаций
кандидат биологических наук

Н.Л. Пшибытко

ВВЕДЕНИЕ

Применение планарных микроэлектродных массивов в качестве сенсоров электрических сигналов открыло новый этап в исследовании динамических явлений в нейронах и нейронных сетях. В качестве объекта таких исследований обычно выступают препараты нервной ткани, органотипические и диссоциированные культуры нейронов. Предметом исследований является электрическая активность отдельных клеток, синаптическая передача сигналов и синаптическая пластичность, коррелированная групповая активность, первичные когнитивные функции. К задачам исследований могут относиться: определение нейротропной активности фармакологических препаратов, химических агентов, природных токсинов; изучение когнитивных функций биологических нейронных сетей и др. [Taketani & Baudry, 2006].

Внеклеточные электрические сигналы (изменения внешнего электрического потенциала), записанные с применением микроэлектродных массивов, обладают широким спектром форм и широким диапазоном амплитуд [Regehr et al., 1989; Bove et al., 1995; Breckenridge et al., 1995; Fromherz, 1999; Egert et al., 2002; Ruardij et al., 2009]. Среди регистрируемых сигналов выделяют несколько типов сигналов (А-, В-, С-, D-тип), классифицированных в соответствии с формой и амплитудой [Fromherz, 1999]. Классификация сигналов используется при детектировании и сортировке сигналов в популяции клеток [Salganicoff et al., 1988; Sarna et al., 1988].

Механизмы формирования внеклеточных сигналов включают в себя совокупность электрических взаимодействий между клеточной мембраной нейрона (или её частями), внеклеточной средой и измерительными элементами сенсора, определяющих форму и амплитуду сигналов. Общим для всех механизмов является то, что электрическая проводимость мембраны нейрона как источника сигнала зависит от величины внеклеточного электрического потенциала, что приводит к возникновению обратной связи при взаимодействии с внешней средой и измерительными элементами [Hodgkin & Huxley, 1952]. Установление механизмов формирования сигналов позволит адекватно сопоставлять параметры внеклеточных сигналов и их изменения с процессами, протекающими на молекулярном, клеточном и нейросетевом уровнях.

При исследовании диссоциированных культур нейронов в качестве механизмов формирования сигналов рассматривают изменения степени адгезии клетки и распределения плотности каналов между областями мембраны клетки, симметрии формы тела клетки и нейритов [Grattarola & Martinoia, 1993; Fromherz, 1999; Buitenweg et al., 2002]. При такой интерпретации не учитывается влияние свойств контакта на перенос ионов через мембрану клетки. При исследовании тканевых препаратов и органотипических культур изменение формы внеклеточных сигналов связывают с неоднородным распределением ион-

ных каналов мембраны и концевыми эффектами при распространении сигнала вдоль нейритов [Traub et al., 1991; Ruardij et al., 2009]. Однако изменения амплитуды ионных токов вблизи окончаний нейритов и их связь с изменениями формы внешних сигналов в этом случае не установлены.

Таким образом, проблема установления механизмов формирования внеклеточных электрических сигналов в условиях адгезии клеток к поверхности сенсоров и при распространении сигналов вдоль нейритов остается актуальной.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (проектами) и темами

Работа выполнена в рамках следующих заданий: «Исследование информационных, нейросенсорных и медико-фармакологических аспектов функционирования нейронных ансамблей *in vitro* в условиях многоканального внешнего воздействия» (ГКПНИ «Биологическая инженерия и биобезопасность», 2006–2010 гг., № ГР 20063506); «Исследовать механизмы функционирования нейронных ансамблей *in vitro* с целью построения нейросенсорных систем» (грант БРФФИ, 2007–2009 гг., № ГР 20072024); «Создание и использование межведомственной лаборатории информационных когнитивных технологий» (ГПНИ «Конвергенция», 2011–2015 гг., № ГР 20115404). Тема работы соответствует перечню приоритетных направлений фундаментальных и прикладных исследований Республики Беларусь на 2011 – 2015 гг., утвержденному постановлением Совета Министров Республики Беларусь №585 от 19.04.2010 г: п. 5.1 – методы математического и компьютерного моделирования; п. 12.6 – когнитивные технологии, изучение проблем сознания и функционирования человеческого мозга.

Цель и задачи исследования

Цель работы – установить механизмы формирования внеклеточных электрических сигналов нейронами при контакте клеток с планарными сенсорами и в условиях распространения возбуждения по нейритам.

Задачи исследований:

1. Изучить характеристики внеклеточных электрических сигналов в области контакта клетки с поверхностью сенсора при культивировании нейронов;
2. Разработать модель неоднородной проводимости и эквивалентный электрический элемент биологической мембраны;
3. Установить механизмы, определяющие форму и амплитуду электрических сигналов в области контакта клетки с поверхностью;
4. Изучить характеристики внеклеточных электрических сигналов в области CA1 гиппокампа;

5. Установить механизмы формирования внеклеточных электрических сигналов нейритами при распространении потенциала действия;

6. Установить механизмы формирования внеклеточных электрических сигналов пирамидальными клетками.

Объект и предмет исследования. Объект исследования – культура диссоциированных нейронов моллюска и переживающие срезы гиппокампа крысы. Предмет исследования – внеклеточные электрические сигналы, формируемые нейронами.

Положения, выносимые на защиту

1. Величины электрического потенциала вблизи поверхности мембраны и пор каналов мембраны зависят от величин ионного тока через поры, тока миграции, электрической проводимости среды вблизи мембраны, плотности ионных каналов в мембране.

2. Форма и амплитуда внеклеточных электрических сигналов в условиях адгезии нейронов к поверхности подложки определяются величинами ионных и емкостных токов через мембрану, ограничивающую щель контакта, которые зависят от проводимости среды в щели и высоты щели.

3. При распространении возбуждения по нейритам изменения формы и амплитуды внеклеточных электрических сигналов в начальной и терминальной областях происходят вследствие дрейфа ионов вдоль нейритов, который приводит к изменениям амплитуды трансмембранного потенциала и величин ионных и емкостных токов.

Личный вклад соискателя

Все основные результаты, изложенные в диссертационной работе, получены автором самостоятельно. Определение темы и целей диссертационной работы, выбор методов исследования, анализ и обобщение полученных результатов проведены совместно с научным руководителем Черенкевичем С.Н. Соавторы отдельных работ: Молчанов П.Г., Денисов А.А., Мартинович Г.Г., Афанасенков Д.А., Питлик Т.Н. – принимали участие в обсуждении результатов работы и оказывали консультативную и методическую помощь.

Апробация результатов диссертации

Основные положения диссертации доложены на международных конференциях «Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем» (Беларусь, Минск, 2000, 2002, 2004, 2006, 2008, 2010); международных научно-технических конференциях «Медэлектроника» (Беларусь, Минск, 2002, 2003) и «Датчик» (Украина, Судак, 2002, 2003, 2004);

международной конференции «Рецепция и внутриклеточная сигнализация» (Россия, Пущино, 2005); республиканских научных конференциях студентов и аспирантов «Физика конденсированных сред» (Беларусь, Гродно, 2000, 2001); республиканской научной конференции студентов, магистрантов и аспирантов Республики Беларусь (Беларусь, Минск, 2000); международных симпозиумах «Динамика и адаптация нейронных систем – интегративные подходы для анализа когнитивных функций» (Германия, Магдебург, 2003, Гамбург, 2005).

Опубликованность результатов

По теме диссертации опубликовано 8 статей в научных журналах (4,5 авторских листа), 16 статей в сборниках конференций и 3 тезисов докладов.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, 2 глав собственных исследований, заключения, списка цитируемой литературы, состоящего из 111 источников, и списка собственных публикаций автора, содержащего 27 источников, 4 приложений. Работа изложена на 122 страницах машинописного текста и содержит 59 рисунков, 2 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты, материалы и методы исследований

При исследовании внеклеточной электрической активности в культуре клеток использовали нейроны пресноводного моллюска *Lymnaea Stagnalis*. Для выделения клеток нервной системы моллюска использовали среды на основе карбонатного буфера. Отдельные клетки выделяли из ганглий, применяя ферментативную и механическую обработку. Для культивирования использовали среды, содержащие факторы роста нервов, сыворотку телячью зародышевую, антибиотики. Суспензию клеток культивировали на поверхности датчика в течение нескольких дней [Syed et al., 1999].

Для регистрации внеклеточных электрических сигналов использовали девятнадцатиканальный пассивный микроэлектродный массив. Диаметр рабочей поверхности электродов составлял 25 мкм, расстояние между электродами – 100 мкм. Для культивирования использовали модульную камеру со встроенными системами перфузии, терморегуляции и референтных электродов (заявка на патент № а20110962 от 11.07.2011).

Исследования внеклеточных электрических сигналов при распространении возбуждения по нейритам проводили на срезах гиппокампа крыс. Поперечные срезы толщиной 400–450 мкм выделяли стандартными методами. Предвари-

тельную инкубацию в течение 45 мин и последующие измерения проводили в искусственной цереброспинальной жидкости (ИЦСЖ) [Митюшов, 1986].

Регистрацию внеклеточных сигналов проводили с помощью методов микроэлектродной техники. В состав установки входили: термостатируемая регистрационная камера, в которой находился срез гиппокампа; система перфузии, обеспечивающая прокачку раствора ИЦСЖ через камеру; система оксигенирования. Система стимуляции/регистрации вызванных электрических потенциалов включала в себя автоматизированный восьмиканальный стимулятор с оптической изоляцией выходных каскадов [Денисов и др., 2002, 2003, 2004].

Для решения задач электродиффузии использовали методы конечных элементов программного пакета COMSOL Multiphysics 4.0. Для решения начальных задач и систем алгебраических уравнений использовали встроенные методы обратного дифференцирования. Системы дифференциальных уравнений первого порядка, соответствующие эквивалентным электрическим схемам, решали с помощью программного пакета MathWorks Matlab 7.10. Для решения использовали многошаговый метод переменного порядка.

Внеклеточные электрические сигналы в области контакта клетки с поверхностью при культивировании нейронов

Для исследования параметров внеклеточных сигналов и параметров контакта клеток с поверхностью сенсора использовали первичную культуру нейронов пресноводного моллюска *Lymnaea Stagnalis*. Клетки культивировали в течение 72 ч при температуре 20–25 °С на рабочей поверхности микроэлектродного массива. Число клеток, попадавших на измерительные электроды, составляло от 7 до 12, каждая клетка располагалась полностью или частично на одном из измерительных электродов (рисунок 1). Измерения проводили относительно референтного электрода, расположенного в камере культивирования. Сопротивление утечки из щели контакта определяли относительно сопротивления свободного электрода при напряжении 5 мВ на частоте 10 кГц.

Было установлено, что в процессе культивирования форма внеклеточных сигналов нейронов изменяется в последовательности: А→D→С-форма (рисунок 2А, Б, В соответственно).

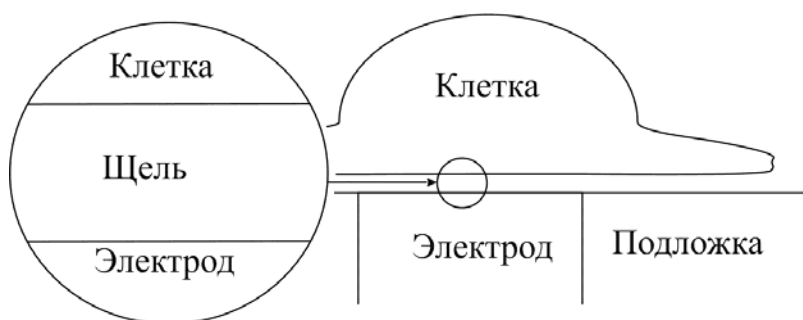
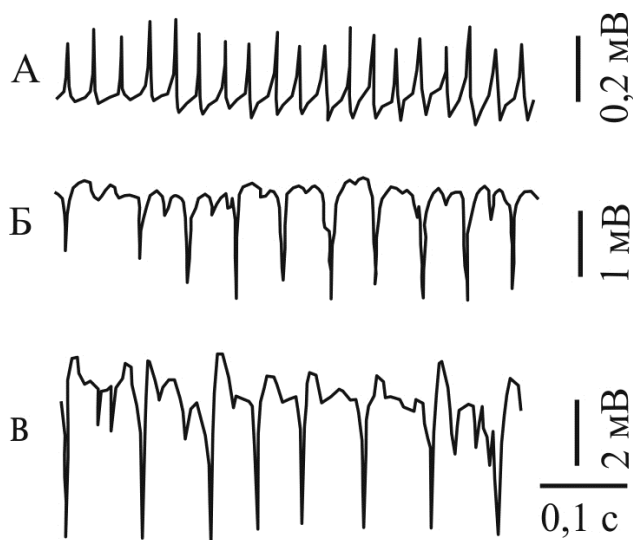


Рисунок 1 – Относительное расположение планарного измерительного электрода и клетки при культивировании



А – 24 ч, Б – 48 ч, В – 72 ч

Рисунок 2 – Форма внеклеточных электрических сигналов нейронов

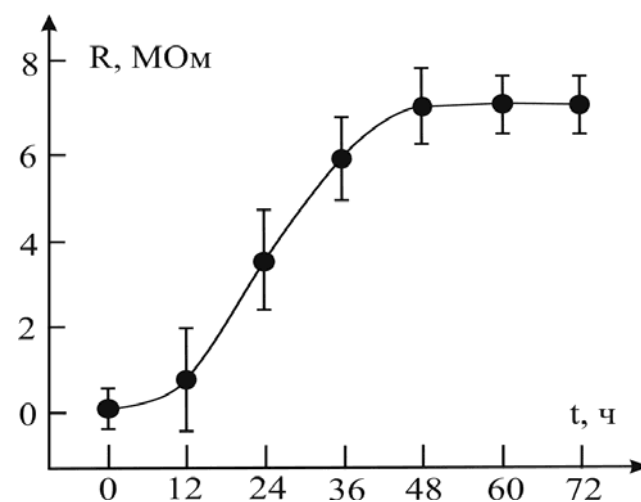
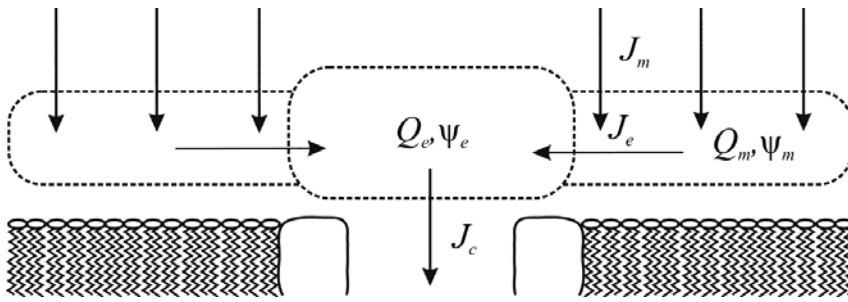


Рисунок 3 – Зависимость сопротивления утечки из щели контакта от времени культивирования клеток

Сигналы А-формы с малой амплитудой от 100 до 300 мкВ наблюдали через 24 ч культивирования, форма каждого сигнала представляла собой последовательность пиков: положительного с большей амплитудой и отрицательного с меньшей амплитудой. В течение этой стадии происходит увеличение сопротивления утечки контакта от 0 до 3 МОм, что соответствует процессам прикрепления и распластывания клеток на поверхности (рисунки 2А и 3). Сигналы В-формы со средней амплитудой от 1 до 2 мВ наблюдали через 48 ч культивирования, форма сигнала характеризовалась одним отрицательным пиком. Для этой стадии характерно увеличение сопротивления утечки контакта от 3 до 7 МОм, что соответствует формированию контакта клеток с поверхностью (рисунки 2Б и 3). Сигналы С-формы с большой амплитудой от 3 до 5 мВ наблюдали через 72 ч культивирования, форма сигналов представляла собой последовательность пиков: отрицательного с большей амплитудой и положительного с меньшей амплитудой. На этой стадии культивирования клеток величина сопротивления утечки остается прежней. Изменение амплитуды и формы сигнала при постоянной величине сопротивления утечки свидетельствует об изменениях степени адгезии клетки к поверхности (рисунки 2В и 3).

Модель неоднородной проводимости мембраны

Для учета влияния проводимости среды в щели на амплитуду трансмембранных токов была разработана модель неоднородной проводимости мембраны. Схема модели может быть представлена с учетом дрейфа зарядов из области поверхностно однородного распределения в область с избыточными зарядами вблизи поры канала с последующим переносом через пору (рисунок 4).



Q_e – избыточный заряд,
 Q_m – однородный заряд,
 J_c – каналный ток,
 J_e – латеральный ток,
 J_m – мембранный ток
 (ток миграции заряда)

Рисунок 4 – Схема модели неоднородной проводимости мембраны

Скорость изменения избыточного заряда Q_e равняется сумме тока через канал J_c и тока латеральной релаксации J_e . В тоже время скорость изменения во времени пространственно однородного заряда Q_m равняется сумме тока латеральной релаксации J_e и мембранного тока J_m (ток миграции зарядов). Эти постулаты могут быть записаны в следующем виде:

$$\begin{cases} \frac{\partial Q_m}{\partial t} = -J_e + J_m, \\ \frac{\partial Q_e}{\partial t} = J_e - J_c. \end{cases} \quad (1)$$

Латеральный ток можно выразить через величину избыточного заряда:

$$J_e = -\frac{\delta}{\varepsilon} Q_e, \quad (2)$$

где, δ – удельная проводимость раствора, ε – диэлектрическая проницаемость раствора. Величину однородного заряда можно выразить через трансмембранный потенциал $\Delta\psi_m$ и электрическую емкость мембраны C_m :

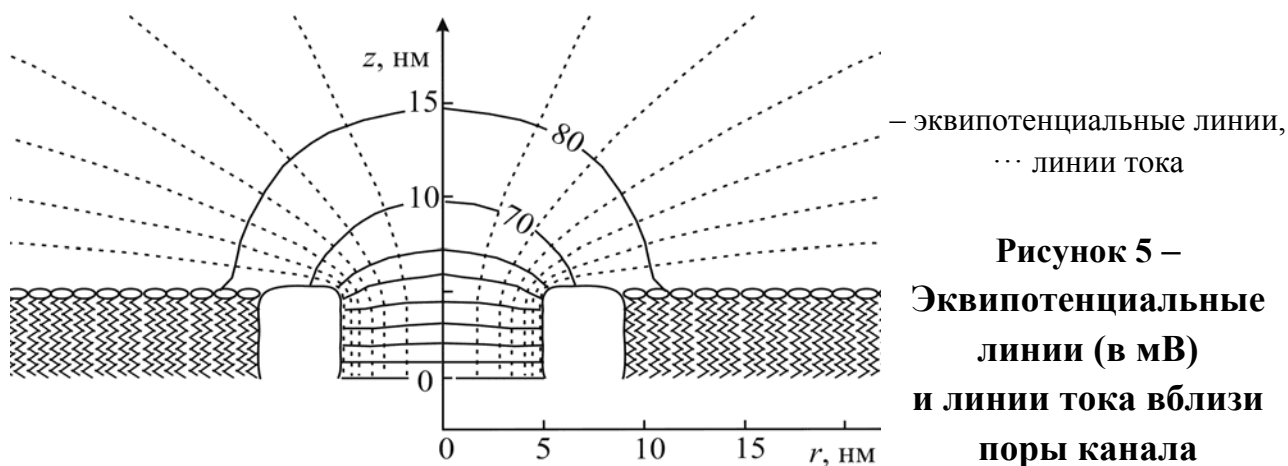
$$Q_m = C_m \Delta\psi_m. \quad (3)$$

Для установления связи между величинами избыточного заряда и избыточного потенциала вблизи поры, проведен компьютерный расчет процесса переноса заряда через пору канала мембраны (рисунок 5). В численном эксперименте мембрану заряжали до 100 мВ, а затем разряжали за счет дрейфа ионов через пору. В процессе дрейфа ионов определяли электрический потенциал и поверхностную плотность заряда в плоскости поверхности мембраны. Расчет проводили для различных значений радиуса поры: от 0 до 200 нм.

Отношение величин потенциала и заряда было установлено эмпирически, как функция емкости мембраны, радиуса поры канала и поверхностной плотности каналов. В результате проведенных расчетов было показано:

$$Q_e = C_m K_e \psi_e, \quad K_e = 10\pi\eta\lambda^2, \quad (4)$$

где C_m – емкость мембраны, K_e – фактор плотности каналов, ψ_e – избыточный потенциал вблизи поры канала, η – плотность каналов, λ – длина экранирования Дебая-Хюккеля.



Подстановка уравнений 2–4 в систему 1 дает нестационарную форму модели неоднородной проводимости мембраны:

$$\begin{cases} C_m \frac{\partial \Delta \psi_m}{\partial t} = \frac{\delta}{\varepsilon} C_m K_e \psi_e + J_m(\psi_m), \\ C_m K_e \frac{\partial \psi_e}{\partial t} = -\frac{\delta}{\varepsilon} C_m K_e \psi_e - J_c(\Delta \psi_m + \Delta \psi_e). \end{cases} \quad (5)$$

На основании модели разработан эквивалентный электрический элемент неоднородного мембранного тока.

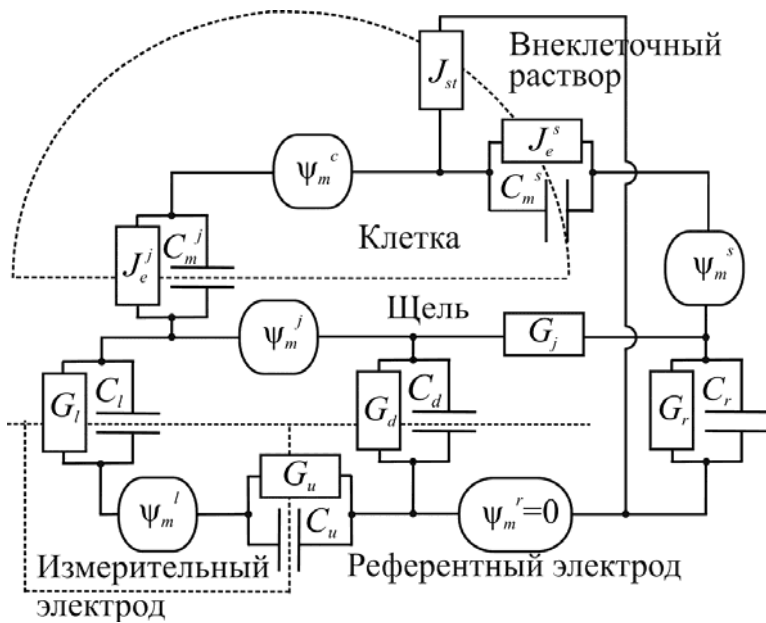
Механизмы, определяющие форму и амплитуду электрических сигналов в области контакта клетки с поверхностью сенсора

Для установления влияния параметров контакта (проводимость среды в щели и высота щели) на форму и амплитуду внеклеточных сигналов, была построена эквивалентная электрическая схема контакта клетки с поверхностью (рисунок 6). Для описания клеточной мембраны использовали эквивалентный электрический элемент неоднородного мембранного тока.

Проводимость среды в щели и высота щели определяют проводимость утечки из щели.

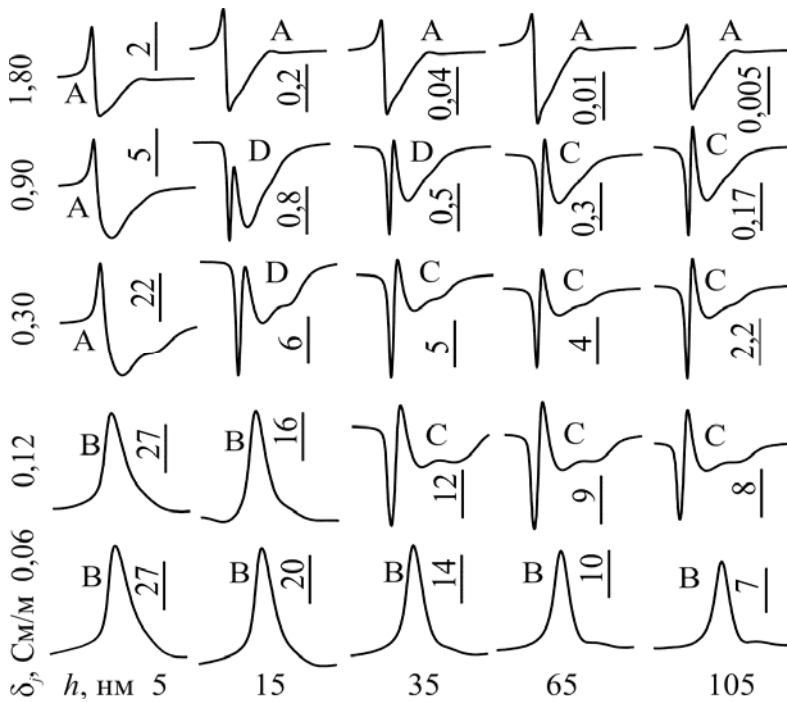
В соответствии с моделью неоднородной проводимости мембраны уменьшение проводимости в щели приводит к увеличению избыточного заряда и избыточного потенциала вблизи поры канала. Для натриевых каналов избыточные заряд и потенциал в щели имеют отрицательную величину, это приводит к более быстрой деполяризации канала. Для калиевых каналов избыточные заряд и потенциал в щели имеют положительную величину, это уменьшает деполяризацию канала.

Внеклеточные электрические сигналы, рассчитанные при различных значениях проводимости и высоты щели, показаны на рисунке 7.



Ψ_m – электрический потенциал (c – внутриклеточный, j – в щели, l – измерительного электрода, s – внеклеточного раствора, r – референтного электрода); J_e – мембранный ток, C_m – емкость (s – верхней части мембраны, j – нижней части мембраны клетки); C – емкость, G – проводимость (l – измерительного электрода, r – референтного электрода, u – измерительного электрода в подложке, d – подложки, j – утечки из щели)

Рисунок 6 – Эквивалентная электрическая схема модели контакта нейрона с поверхностью сенсора



h – высота щели,
 δ_r – проводимость среды в щели,
 длительность сигналов 15 мс,
 амплитуда сигналов в мВ

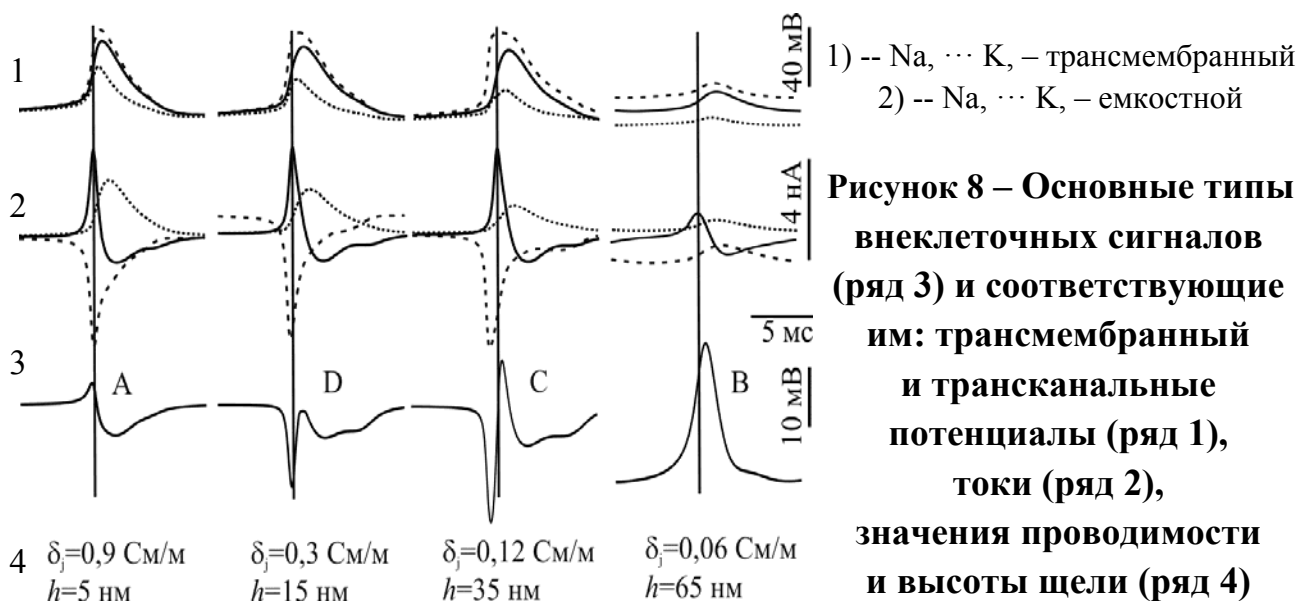
Рисунок 7 – Изменение амплитуды и формы (А-, В-, С-, D-тип) внеклеточных сигналов в зависимости от высоты щели и проводимости среды в щели

Электрический потенциал в щели Ψ_m^j определяется законом Кирхгофа:

$$C_d \frac{\partial(\Psi_m^j - \Psi_m^r)}{\partial t} + \Psi_m^j G_j = C_m^j \frac{\partial(\Psi_m^c - \Psi_m^j)}{\partial t} + J_e^j(\delta_j, J_c^j). \quad (8)$$

Когда проводимость среды в щели велика, например, равна проводимости внеклеточного раствора, избыточные потенциалы вблизи каналов на верхней и нижней частях клетки малы и равны между собой. В такой ситуации процесс переноса зарядов практически симметричен, тогда ионный и емкостной токи имеют сопоставимую по величине амплитуду и противоположные направления.

В результате суммарный мембранный ток мал и внеклеточный потенциал имеет низкую амплитуду (А-тип сигналов на рисунках 7 и 8).

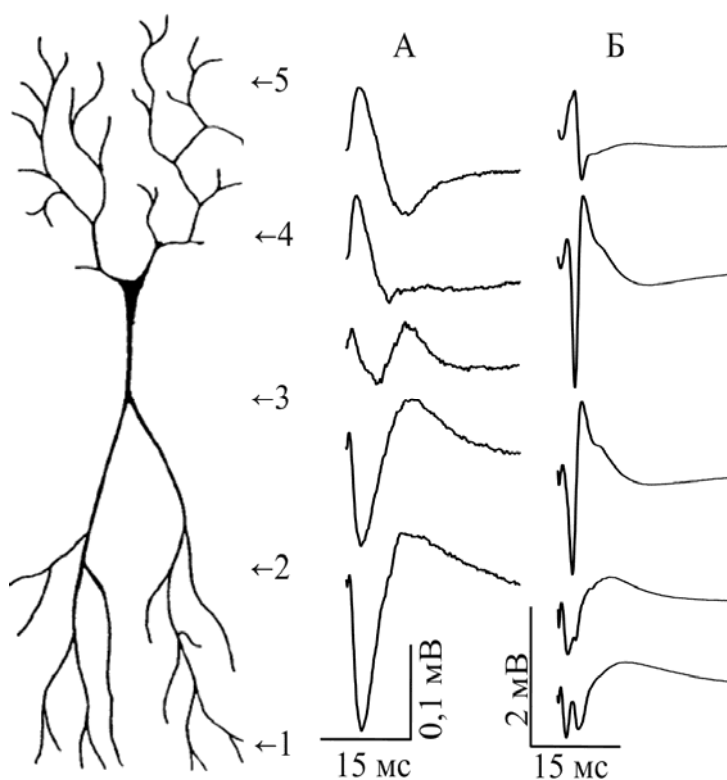


В условиях, когда проводимость среды в щели имеет среднюю величину и емкость субстрата невелика, форма сигнала в щели повторяет форму суммарного мембранного тока, а амплитуда зависит от проводимости утечки из щели (уравнение 8). Этот тип контакта можно назвать «омическим». Суммарный мембранный ток в этом случае равен сумме тока через мембранную емкость и ионного тока через каналы (уравнение 8). Более быстрая активация натриевого тока приводит к появлению первого отрицательного пика в форме внешнего сигнала (С-, D-тип сигнала на рисунках 7 и 8).

В ситуации, когда проводимость среды в щели мала, проводимость утечки из щели и токи через поры каналов также малы. В этом случае форма внеклеточного сигнала ψ_m^j повторяет форму внутриклеточного сигнала ψ_m^c и амплитуда сигнала зависит от емкостей мембраны и субстрата (уравнение 8). Этот тип контакта можно назвать «емкостным». Для этого типа контакта амплитуда сигнала возрастает из-за уменьшения проводимости утечки из щели (В-тип сигналов на рисунках 7 и 8).

Параметры внеклеточных электрических сигналов области СА1 гиппокампа

Популяционные внеклеточные сигналы области СА1 регистрировали с помощью микроэлектродной техники. Стимулирующий электрод помещали в области коллатералей Шаффера. Регистрирующий электрод помещали в области пирамидальных нейронов области СА1 вдоль апикально-базальной оси поочередно в пяти точках на расстоянии 250 мкм, как показано на рисунке 9.



1, 2, 3, 4, 5 – области регистрации внеклеточных сигналов нейрона

Рисунок 9 – Внеклеточные групповые электрические сигналы: (А) – при подпороговой стимуляции, (Б) – при надпороговой стимуляции

При подпороговой стимуляции форма внеклеточных возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП) в области апикальных дендритов представляет собой последовательность из первого отрицательного и второго положительного пиков. При смещении точки регистрации в область базальных дендритов происходит постепенная инверсия сигнала: сначала следует отрицательный пик, затем – положительный. При надпороговой стимуляции на фоне ВПСП появляется потенциал действия (ПД) с меньшим периодом. Форма ПД характеризуется двумя пиками: отрицательным и положительным, и также претерпевает инверсию при распространении сигнала в область базальных дендритов.

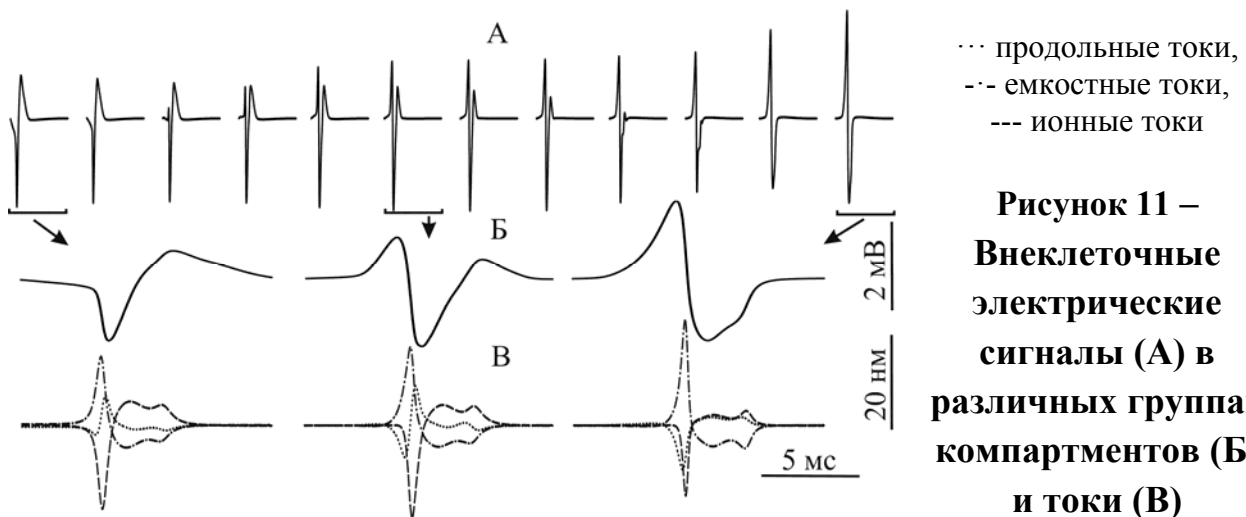
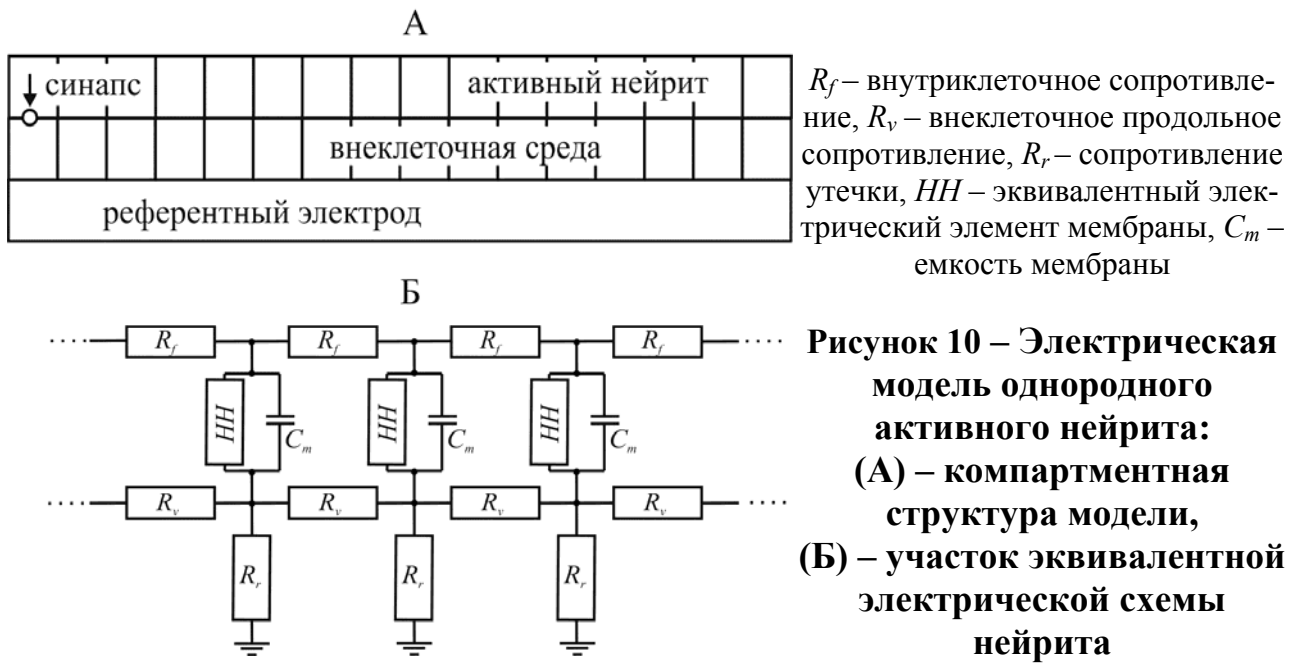
Механизмы формирования

внешних электрических сигналов нейритами

Для установления механизмов формирования внеклеточных электрических сигналов вблизи нейритов конечной длины при распространении ВПСП (при подпороговой стимуляции) и ПД (при надпороговой стимуляции) нами разработана биофизическая модель нейрита и прилегающей внешней среды. Модель представляет собой систему компартментов нейрита, внешней среды и референтного электрода, соединенных между собой резистивными и емкостными эквивалентными электрическими элементами (рисунок 10). Для описания проводимости мембраны нейрита использованы уравнения Ходжкина–Хаксли.

С помощью разработанной модели рассчитаны амплитуда и форма внеклеточных групповых ВПСП при подпороговой стимуляции и ПД при надпороговой стимуляции для каждого компартмента.

Форма и амплитуда внеклеточных сигналов и соответствующие им токи через мембрану компартментов показаны на рисунке 11.



В стационарных компартментах (в которых форма сигнала не меняется) первый положительный пик во внеклеточном сигнале обусловлен емкостным током, второй отрицательный – натриевым током, третий положительный – калиевым током. Продольные токи в этом случае пропорциональны второй производной по времени от величины внешнего потенциала. Форма продольного тока представляет собой последовательность из первого отрицательного и второго положительного пиков, которые приблизительно равны по величине. Следовательно, суммарный заряд, переносимый продольными токами, приблизительно равен нулю.

В компартментах терминальной области (в которых сигнал испытывает терминальную трансформацию) происходит увеличение амплитуды емкостного тока, как следствие – увеличение первого положительного пика внеклеточного сигнала. Амплитуда ионного тока уменьшается, что приводит к уменьшению

амплитуды второго отрицательного пика и исчезновению третьего положительного пика во внеклеточном сигнале. В результате внешний сигнал включает только положительный и отрицательный пики. Форма изменения продольного тока характеризуется только отрицательным пиком. Исчезновение положительного пика связано с невозможностью заряда перераспределяться далее вдоль нейрита, поскольку внеклеточная область вблизи терминали ограничена. Это приводит к тому, что продольные токи переносят некоторый суммарный заряд отрицательной величины в данный компартмент.

В начальных компартментах (в которых происходит начальная трансформация сигнала) амплитуда емкостного тока уменьшается (по сравнению со стационарной областью), что приводит к исчезновению первого положительного пика в форме внеклеточных сигналов. Амплитуда ионного тока изменяется незначительно. Результирующая форма внеклеточного сигнала представляет собой последовательность отрицательного и положительного пиков. В форме продольного тока пропадает первый отрицательный пик (в противоположность с терминальной областью). Это связано с тем, что ПД «зарождается» в начальной области (за счет синаптического тока). В результате, продольные токи переносят некоторый суммарный заряд положительной величины в данные компартменты.

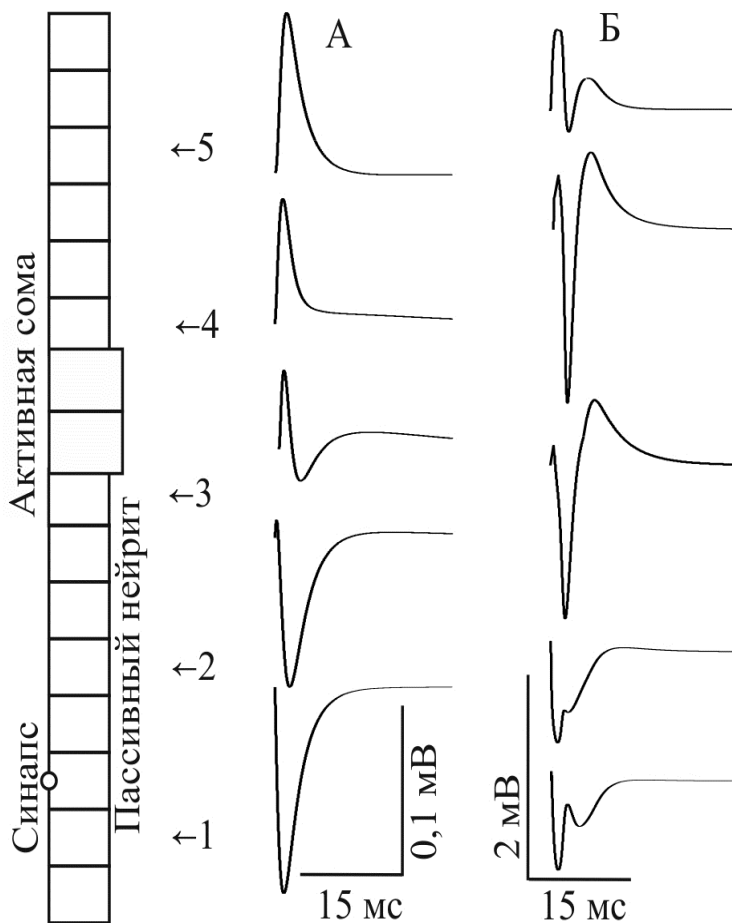
Таким образом, во внеклеточной среде продольные токи переносят часть отрицательного заряда из начальных компартментов в терминальные, во внутриклеточной среде продольные токи переносят часть положительного заряда. Необходимо отметить, что внутриклеточный потенциал в начальной области падает на ~ 10 мВ, а в терминальной возрастает на ~ 10 мВ по сравнению со стационарной областью. Вследствие малости внешнего потенциала трансмембранный потенциал практически равен внутриклеточному.

Изменения формы внеклеточных подпороговых сигналов аналогичны изменениям формы надпороговых сигналов. В основе изменений лежат одни и те же механизмы.

Таким образом, можно заключить, что изменение формы внеклеточных электрических сигналов нейритов в начальной (область стимуляции) и терминальной областях распространения сигнала связано с дрейфом заряда вдоль нейрита, изменениями величин продольного сопротивления и трансмембранного потенциала. Форма ВПСП и ПД в начальной области представляет собой последовательность отрицательного (обусловленного натриевым током) и положительного (обусловленного калиевым током) пиков; в терминальной области – положительного (обусловленного емкостным током) и отрицательного (обусловленный натриевым током) пиков.

Механизмы формирования внешних электрических сигналов пирамидальными клетками области СА1 гиппокампа

Для установления механизмов формирования внеклеточных электрических групповых возбуждающих постсинаптических потенциалов (ВПСП) и потенциалов действия (ПД) пирамидальных клеток области СА1 гиппокампа нами построена модель по аналогии с моделью однородного активного нейрита. Модель пирамидальной клетки отличается тем, что нейриты принимаются пассивными, а активной остается только мембрана сомы (тела клетки), роль которой выполняли два компартмента в середине клетки (рисунок 12).



1, 2, 3, 4, 5 – области расчета сигналов

Рисунок 12 – Модель нейрона и рассчитанные внеклеточные электрические сигналы пирамидальных клеток:

**(А) – при подпороговой стимуляции,
(Б) – при надпороговой стимуляции**

Как видно из рисунка 12А, форма и амплитуда рассчитанных внеклеточных ВПСП изменяется аналогично форме и амплитуде внеклеточных подпороговых сигналов однородного активного нейрита и хорошо совпадает с ВПСП, которые были зарегистрированы экспериментально от пирамидальных клеток области СА1.

Форма рассчитанных внеклеточных сигналов при надпороговой стимуляции соответствует форме зарегистрированных сигналов и представляет собой суперпозицию ВПСП и ПД. Такое формирование сигнала объясняется комбинацией пассивных свойств нейритов и активных свойств сомы пирамидальных клеток. Кроме того, амплитуда сигнала возрастает в области сомы, что объясняется большей площадью активной мембраны в этой области и уменьшением расстояния между клетками.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Экспериментально установлены электрические характеристики внеклеточных электрических сигналов в области контакта клетки с поверхностью при культивировании нейронов *Lymnaea Stagnalis*. Показано, что в процессе культивирования форма электрических внеклеточных сигналов изменяется в последовательности: А→D→С-форма [1, 5, 10–12]:

– сигналы А-формы с малой амплитудой наблюдаются на начальной стадии культивирования, в течение которой происходит увеличение сопротивления утечки контакта, что обусловлено процессами прикрепления и распластывания клеток на поверхности;

– сигналы D-формы со средней амплитудой наблюдаются на второй стадии культивирования, для которой характерно установление постоянного сопротивления утечки контакта, что обусловлено процессами формирования стабильного контакта клеток с поверхностью;

– сигналы С-формы с большой амплитудой наблюдаются на третьей стадии культивирования при постоянной величине сопротивления утечки, что связано с изменениями электрических и геометрических параметров контакта клетки с поверхностью.

2. Впервые разработана модель неоднородной электрической проводимости биологических мембран. Модель состоит из уравнений непрерывности для заряда и учитывает дифференциальную зависимость электрического потенциала вблизи мембраны и пор каналов мембраны от величин ионного тока через поры, тока миграции, электрической проводимости среды вблизи мембраны, плотности ионных каналов в мембране. На основании модели разработан эквивалентный электрический элемент неоднородного мембранного тока [2, 3, 8, 15, 21].

3. Установлено, что в условиях адгезии нейронов к поверхности подложки изменения проводимости среды в щели и высоты щели обуславливают величины ионных токов через мембрану, ограничивающую щель контакта, что определяет форму и амплитуду внеклеточных электрических сигналов [4, 8, 9, 13, 14, 17, 25–27]:

– при большой проводимости и малой высоте щели формируются сигналы А-формы малой амплитуды, контакт относится к резистивному типу;

– при средней проводимости и большой высоте щели формируются сигналы D- и С-формы средней амплитуды, контакт относится к резистивному типу;

– при малой проводимости и малой высоте щели формируются сигналы В-формы большой амплитуды, контакт относится к емкостному типу.

4. Впервые установлено, что при распространении возбуждения по нейритам изменение формы и амплитуды внеклеточных электрических сигналов в начальной и терминальной областях обусловлено изменениями величины ионных и емкостных токов вследствие дрейфа ионов вдоль нейритов, который приводит к изменениям амплитуды трансмембранного потенциала. Форма внеклеточных ВПСП и ПД в начальной области характеризуется последовательностью отрицательного (обусловленного натриевым током) и положительного (обусловленного калиевым током) пиков; в терминальной области – последовательностью положительного (обусловленного емкостным током) и отрицательного (обусловленного натриевым током) пиков [6, 7, 16, 18–20, 22–24].

5. Показано, что при надпороговом возбуждении форма внеклеточных групповых электрических сигналов пирамидальных клеток области CA1 гиппокампа обусловлена суперпозицией внеклеточных ВПСП и ПД, что является результатом сочетания активных свойств мембраны сомы и пассивных свойств мембраны дендритов клеток [7, 20, 22–24].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Разработанная модель неоднородной электрической проводимости биологических мембран используется в учебном процессе БГУ для анализа ионной проводимости биологических мембран, для моделирования внеклеточной электрической сигнализации в нервной системе (акт внедрения от 24.06.2009).

Разработанная модель формирования внеклеточных электрических сигналов в области CA1 гиппокампа используется в научно-исследовательском и учебном процессах БГУ для моделирования электрофизиологических процессов, изучения синаптической передачи, синаптической пластичности в мозге в норме и при патологии, для разработки методов фармакологической коррекции когнитивных функций (акт внедрения от 20.03.2007).

Разработан способ изготовления планарного микроэлектродного массива для регистрации электрофизиологических сигналов путем внедрения металлических электродов в стеклянную поликапиллярную матрицу и формирования сигнальных выводов. Изобретение относится к медицинскому и научному приборостроению, а именно, к области электрофизиологических методов исследований (заявка на патент № а20110962 от 11.07.2011).

Разработанный микроэлектродный массив используется в научно-исследовательском процессе ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси» для стимуляции и регистрации электрофизиологических сигналов диссоциированных и органотипических культур нейронов и препаратов нервной ткани (акт внедрения от 29.09.2008).

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах

1. Булай, П.М. Внеклеточный многоэлектродный сенсор для исследования электрической активности клеток / П.М. Булай, А.А. Денисов, П.Г. Молчанов, Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // Весці. НАН Беларусі. Сер. фіз.-тэхн. навук. – 2006. – № 2. – С. 97–100.
2. Афанасенков, Д.С. Электродиффузионная модель возбудимой клеточной мембраны / Д.С. Афанасенков, П.М. Булай, Т.Н. Питлик, С.Н. Черенкевич // Вестн. БГУ. Сер. 1. – 2007. – № 1. – С. 3–7.
3. Булай, П.М. Неоднородный перенос заряда через биологические мембраны / П.М. Булай, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич, Д.С. Афанасенков, Т.Н. Питлик // Вестн. БГУ. Сер. 1. – 2008. – № 1. – С. 3–7.
4. Булай, П.М. Механизмы формирования внеклеточных электрических сигналов при адгезии клеток к поверхности / П.М. Булай, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич // Вестн. БГУ. Сер. 1. – 2008. – № 3. – С. 7–10.
5. Булай, П.М. Внеклеточные электрические сигналы нейронов при контакте с поверхностью планарного сенсора / П.М. Булай, А.А. Денисов, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич, Т.Н. Питлик // Докл. НАН Беларусі. – 2009. – Т. 53, № 2. – С. 92–95.
6. Питлик, Т.Н. Влияние пероксида водорода на полевой постсинаптический потенциал области CA1 гиппокампа крысы / Т.Н. Питлик, П.М. Булай, А.А. Денисов, Д.С. Афанасенков, Ю.С. Гаркун, С.Н. Черенкевич, В.А. Кульчицкий // Вестн. БГУ. Сер. 2. – 2009. – № 2. – С. 40–44.
7. Денисов, А.А. Структурно-функциональный отклик биологических нейронных сетей на внешнее модулирующее воздействие / А.А. Денисов, П.М. Булай, Т.А. Кулагова, П.Г. Молчанов, Т.Н. Питлик, С.Н. Черенкевич // Вестн. БГУ. Сер. 1. – 2011. – № 3. – С. 32–48.
8. Bulai, P.M. Extracellular electrical signals in a neuron-surface junction: model of heterogeneous membrane conductivity / P.M. Bulai, P.G. Molchanov, A.A. Denisov, T.N. Pitlik, S.N. Cherenkevich // Eur. Biophys. J. – 2012. – V. 41, № 3. – P. 319–327.

Статьи в сборниках научных работ

9. Булай, П.М. Модель формирования внешнего потенциала нейрона при спонтанной активности / П.М. Булай // V республиканская научная конференция студентов, магистрантов и аспирантов Республики Беларусь : матер. конф., Гродно, 25-27 апреля 2000 г. / редкол.: Маскевич С.А. – Гродно, 2000. – С. 11–14.

10. Булай, П.М. Многоэлектродный датчик внеклеточного электрического поля / П.М. Булай, А.А. Денисов, П.Г. Молчанов, Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // XIV научно-техническая конференция «Датчик–2002» : матер. конф., Судак, 24-31 мая 2002 г. / Симферопольский гос. ун-т; редкол.: Азаров Н.В. – Симферополь, 2002. – С. 256.

11. Булай, П.М. Сенсор внеклеточных электрических сигналов / П.М. Булай, А.А. Денисов, П.Г. Молчанов // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сборник статей междунар. науч. конф., Минск, 22-24 октября 2002 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Тонпик, 2002. – С. Т-136.

12. Булай, П.М. Пассивный планарный сенсор для регистрации внеклеточных электрических сигналов / П.М. Булай, А.А. Денисов, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич, Г.Г. Мартинович, Д.С. Афанасенков // Медэлектроника–2002. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии : материалы междунар. науч.-тех. конф., Минск, 20–21 ноября 2002 г. / редкол.: Дик С.К. – Минск: Изд. Н.Б. Киреев, 2002. – С. 44–46.

13. Булай, П.М. Формирование внеклеточных электрических сигналов в планарных нейросенсорах / П.М. Булай, Д.С. Афанасенков, П.Г. Молчанов, А.А. Денисов, Г.Г. Мартинович, С.Н. Черенкевич // Медэлектроника–2003. Средства медицинской электроники и новые медицинские технологии : материалы междунар. науч.-тех. конф., Минск, 20–21 ноября 2003 г. / редкол.: Дик С.К. – Минск: БГУИР, 2003. – С. 119–122.

14. Булай, П.М. Квазистационарная нелинейная модель для описания внеклеточного электрического потенциала / П.М. Булай, П.Г. Молчанов, Д.С. Афанасенков // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем: Сборник статей международной научной конференции, Минск, 6-8 октября, / Изд. центр БГУ; редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск, 2004. – С. 65–67.

15. Афанасенков, Д.С. Электродиффузионная модель электрически активной клеточной мембраны / Д.С. Афанасенков, П.М. Булай, Т.Н. Питлик // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сборник статей междунар. науч. конф., Минск, 6-8 октября, 2004 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2004. – С. 62–64.

16. Питлик, Т.Н. Влияние пероксида водорода на постсинаптический электрический потенциал пирамидальных нейронов гиппокампа / Т.Н. Питлик, П.М. Булай, А.А. Денисов, Д.С. Афанасенков, С.С. Черенкевич // Медико-социальная экология личности : состояние и перспектив: матер. межд. конф., Минск, 1-2 апреля 2005 г. / редкол.: Прокашова В.А. [и др.]. – Минск: Издат. центр БГУ, 2005. – С. 226–229.

17. Булай, П.М. Модель нестационарных токов для описания внешних электрических сигналов нейронов / П.М. Булай, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич // Рецепция и внутриклеточная сигнализация : материалы междунар. конф., Пущино, 6-9 июня 2005 г. / редкол.: Зинченко В.П. – Москва, 2005. – С. 111–114.

18. Афанасенков, Д.С. Влияние параметров синаптической передачи на характеристики модельных подпороговых внеклеточных электрических потенциалов в области СА1 гиппокампа / Д.С. Афанасенков, П.М. Булай, Т.Н. Питлик // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сборник статей междунар. науч. конф., Минск, 21-23 июня 2006 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Право и экономика, 2006. – С. 187–189.

19. Питлик, Т.Н. Влияние пероксида водорода на полевой постсинаптический потенциал области СА1 гиппокампа / Т.Н. Питлик, П.М. Булай, Д.С. Афанасенков, А.А. Денисов, С.Н. Черенкевич // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сборник статей междунар. науч. конф., Минск, 21-23 июня 2006 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск, 2006: Право и экономика. – С. 298–300.

20. Черенкевич, С.Н. Влияние нейрорактивных веществ на свойства нейронов среза гиппокампа *in vitro* / С.Н. Черенкевич, А.А. Денисов, П.М. Булай, Ю.С. Гаркун, Т.Н. Питлик, О.В. Гилевская // Лекарственные средства и биологически активные соединения : материалы междунар. конф., Гродно, 11–12 октября 2007 г. / редкол.: Пронько П.С. [и др.]. – Гродно, 2007: ГрГМУ. – С. 184–185.

21. Булай, П.М. Модель макроскопического переноса заряда через клеточные мембраны / П.М. Булай, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сборник статей междунар. науч. конф., Минск, 25-27 июня 2008 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – С. 166–168.

22. Черенкевич, С.Н. Регуляция функциональных свойств нейронов и нейронных сетей *in vitro* / С.Н. Черенкевич, А.А. Денисов, П.Г. Молчанов, П.М. Булай, Т.Н. Питлик, Д.А. Афанасенков // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сборник статей междунар. науч. конф., Минск, 25–27 июня 2008 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – С. 16–18.

23. Булай, П.М. Курс «Биофизика сложных систем» для специализации биофизика на физическом факультете Белорусского государственного университета / П.М. Булай // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : сборник статей междунар. науч. конф., Минск, 25–27 июня, 2008 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2008. – С. 349-351.

24. Булай, П.М. Механизмы формирования внешних электрических сигналов пирамидальными клетками области CA1 гиппокампа / П.М. Булай, А.А. Денисов, Т.Н. Питлик, С.Н. Черенкевич // Молекулярные, мембранные и клеточные основы функционирования биосистем : Сборник статей международной научной конференции, Минск, 19-21 июня, 2012 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2012. – С. 132–135.

Тезисы докладов

25. Булай, П.М. Формирование внеклеточного потенциала нейрона при контакте клетки с диэлектрической поверхностью / П.М. Булай // Физика конденсированных сред : тез. докл. VIII респ. науч. конф. студентов и аспирантов, Гродно, 3-5 мая 2000 г. / редкол.: Лиопо В.А. – Гродно, 2000: ГрГУ. – С. 48–49.

26. Булай, П.М. Применение сферических функций для определения параметров внешних электрических сигналов нейронов в экспериментальных условиях / П.М. Булай, П.Г. Молчанов, С.Н. Черенкевич, А.А. Денисов, Г.Г. Мартинович // Молекулярно-клеточные основы функционирования биосистем : Тезисы докладов международной научной конференции, Минск, 28-30 июня, 2000 г. / редкол.: И.Д. Волотовский [и др.]. – Минск: Изд. центр БГУ, 2000. – С. 298.

27. Булай, П.М. Модель для расчета значений внешнего потенциала нейронов / П.М. Булай // Физика конденсированных сред : тез. докл. IX респ. науч. конф. студентов, магистрантов и аспирантов, Гродно, Беларусь, 2-4 мая 2001 г. / редкол.: Лиопо В.А. – Гродно: ГрГУ, 2001. – С. 48–49.

РЭЗІЮМЭ

Булай Павел Міхайлавіч

Механізмы фарміравання пазаклеткавых электрычных сігналаў нейронамі

Ключавыя словы: нейроны, нейрыты, пазаклеткавыя электрычныя сігналы, патэнцыял дзеяння, узбуджальныя постсінаптычныя сігналы.

Мэта працы: вызначыць механізмы фарміравання пазаклеткавых электрычных сігналаў нейронамі пры кантакце клетак з планарнымі сэнсарамі і ва ўмовах распаўсюджвання ўзбуджэння па нейрытах.

Метады даследавання: пазаклеткавая стымуляцыя і рэгістрацыя ўзбуджальных постсінаптычных патэнцыялаў і патэнцыялаў дзеяння, матэматычнае мадэляванне, лікавыя камп'ютарныя эксперыменты.

Атрыманыя вынікі і іх навізна. Упершыню распрацавана мадэль для апісання праводнасці біялагічных мембран, якая ўлічвае паверхневую неаднароднасць току і складаецца з ураўненняў неразрыўнасці для зарада і апісвае дыферэнцыяльную залежнасць электрычнага патэнцыялу каля паверхні мембраны ад велічынь іённага току праз каналы, току міграцыі ад паверхні мембраны, электрычнай праводнасці асяроддзя паблізу мембраны, шчыльнасці іённых каналаў у мембране. Устаноўлена, што ва ўмовах адгезіі клетак да паверхні сэнсараў форма і амплітуда пазаклеткавых электрычных сігналаў вызначаюцца незалежна таўшчынёй шчыліны паміж клеткай і паверхняй і праводнасцю асяроддзя ў шчыліне. Паказана, што пры вялікай праводнасці і малой таўшчыні шчыліны фарміруюцца сігналы малой амплітуды, кантакт адносіцца да рэзістыўнага тыпу; пры малой праводнасці і вялікай таўшчыні шчыліны фарміруюцца сігналы вялікай амплітуды, кантакт адносіцца да рэзістыўнага тыпу; пры малой праводнасці і малой таўшчыні шчыліны фарміруюцца сігналы вялікай амплітуды, кантакт адносіцца да ёмістага тыпу. Упершыню ўстаноўлена, што змяненне формы пазаклеткавых электрычных сігналаў нейрытаў у пачатковай і тэрмінальнай зонах распаўсюджвання сігналаў звязана са зменай велічыні падоўжнага супраціўлення і дрэйфам зарада ўздоўж нейрытаў.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: вынікі даследаванняў укаранены ў навучальны працэс Беларускага дзяржаўнага ўніверсітэта, у навукова-даследчы працэс ДНУ «Інстытут фізіялогіі НАН Беларусі». Атрыманыя рэзультаты могуць быць выкарыстаны для даследавання электрычнай сігналізацыі ў нейрасетках, пры стварэнні біясэнсараў.

Галіна выкарыстання: біяфізіка, нейрафізіялогія, нейрасэнсары.

РЕЗЮМЕ

Булай Павел Михайлович

Механизмы формирования внеклеточных электрических сигналов нейронами

Ключевые слова: нейроны, нейриты, внеклеточные электрические сигналы, потенциал действия, возбуждающие постсинаптические сигналы.

Цель работы: установить механизмы формирования внеклеточных электрических сигналов нейронами при контакте клеток с планарными сенсорами и в условиях распространения возбуждения по нейритам.

Методы исследования: внеклеточная стимуляция и регистрация возбуждающих постсинаптических потенциалов и потенциалов действия, математическое моделирование, численные компьютерные эксперименты.

Полученные результаты и их новизна. Впервые разработана модель для описания проводимости биологических мембран, учитывающая поверхностную неоднородность тока, состоящая из уравнений непрерывности для заряда и описывающая дифференциальную зависимость электрического потенциала у поверхности мембраны от величин ионного тока через каналы, тока миграции от поверхности мембраны, электрической проводимости среды вблизи мембраны, плотности ионных каналов в мембране. Установлено, что в условиях адгезии клеток к поверхности сенсоров форма и амплитуда внеклеточных электрических сигналов определяются независимо высотой щели между клеткой и поверхностью и проводимостью среды в щели. Показано, что при большой проводимости и малой высоте щели формируются сигналы малой амплитуды, контакт относится к резистивному типу; при малой проводимости и большой высоте щели формируются сигналы большой амплитуды, контакт относится к резистивному типу; при малой проводимости и малой высоте щели формируются сигналы большой амплитуды, контакт относится к емкостному типу. Впервые установлено, что изменение формы внеклеточных электрических сигналов нейритов в начальной и терминальной областях распространения сигнала связано с изменением величины продольного сопротивления и дрейфом заряда вдоль нейритов.

Рекомендации по использованию: результаты исследований внедрены в учебный процесс Белорусского государственного университета, в научно-исследовательский процесс ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси». Полученные данные могут быть использованы для исследования электрической сигнализации в нейросетях, при создании биосенсоров.

Область применения: биофизика, нейрофизиология, нейросенсоры.

SUMMARY

Bulai Pavel

The mechanisms of extracellular electrical signals formation by neurons

Key words: neurons, neurites, extracellular electrical signals, action potentials, excitatory postsynaptic signals.

Objective: to establish mechanisms of extracellular electrical signals formation by neurons during cell contact with planar sensor and during of excitation propagation in axons.

Methods: extracellular stimulation and recording of excitatory postsynaptic potentials and action potentials, mathematical modeling, numerical computer experiments.

The results obtained and their novelty. A model of biological membranes conductivity, taking into account the heterogeneity of the surface current, consisting of continuity equations for charge and describing the differential dependence of electric potential at the membrane surface on the values of ionic current through channels, the migration current from the membrane surface, the electrical conductivity of medium near the membrane, the density of membrane ion channels was developed. It was obtained that in conditions of cell adhesion to the surface of the sensor shape and amplitude of extracellular electrical signals are defined independently by both gap thickness between the cell and the surface and conductivity of the medium in the gap. It was shown that at high conductivity and small gap thickness signals of small amplitude are formed, the contact relates to the resistive type; at low conductivity and large gap thickness large-amplitude signals are formed, the contact relates to the resistive type; at low conductivity and small gap thickness large-amplitude signals are formed, the contact relates to the capacitive type. It was obtained that the change in the form of neurites extracellular electrical signals in primary and terminal areas of signal propagation is associated with the changes in the longitudinal resistance and drift of the charge along the neurites.

Recommendations for use: the results of research are introduced to the educational process of Belarusian State University and the research process of The Institute of Physiology of NAS of Belarus. The obtained results can be used for the investigation of the electrical signaling in neural networks and for the creation of biosensors.

Field of application: biophysics, neurophysiology, neurosensors.