

## ВОЗБУЖДАЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ГАМК В ОНТОГЕНЕЗЕ

© Г. Р. Валеева,<sup>1,2</sup> Р. Н. Хазипов,<sup>1</sup> Е. Е. Никольский<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Средиземноморский институт нейробиологии, г. Марсель, Франция,  
e-mail: khazipov@inmed.univ-mrs.fr;

<sup>2</sup> Казанский институт биохимии и биофизики РАН, Россия, Казань

ГАМК (гамма-аминомасляная кислота) является главным медиатором торможения в центральной нервной системе. Однако на ранних этапах развития ГАМК оказывает возбуждающее действие на незрелые нейроны. В настоящем обзоре представлены современные представления о механизмах ГАМКергического возбуждения и о физиологической роли возбуждающей ГАМК в генерации паттернов сетевой активности в развивающемся мозге.

*Ключевые слова:* ГАМК, интернейрон, кора головного мозга, торможение, возбуждение, синапс, развитие.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 97. № 11. С. 1179—1186. 2011

*G. R. Valeeva,<sup>1,2</sup> R. N. Khazipov,<sup>1</sup> E. E. Nikolsky.<sup>2</sup> EXCITATORY ACTION OF GABA IN ONTOGENESIS.* <sup>1</sup>Mediterranean Institute of Neurobiology, Marseille, France, e-mail: khazipov@inmed.univ-mrs.fr; <sup>2</sup>Institution of Russian Academy of Sciences the Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, Kazan, Scientific Center RAS, Kazan, Russia, 420111.

GABA (gamma-aminobutyric acid) is the main inhibitory mediator in central nervous system. However, at early stages of ontogenesis, GABA has an excitatory effect on immature neurons. This review surveys modern concepts of the mechanisms of GABAergic excitation and physiological role of excitatory GABA in generation of patterns of network activity in developing brain.

*Key words:* GABA, interneuron, cerebral cortex, inhibition, excitation, synapse, development.

RUSSIAN PHYSIOLOGICAL JOURNAL. V. 97. № 11. P. 1179—1186 2011

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) является основным медиатором торможения в нервной системе взрослых животных. ГАМК вырабатывается особым классом нейронов — интернейронами, которые составляют примерно 10—20 % от общего количества нейронов. Освобождение ГАМК в тормозном синапсе приводит к активации проницаемых для ионов хлора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов на постсинаптической мембране. Это вызывает кратковременное увеличение проводимости клеточной мембраны (что лежит в основе шунтирующего торможения) и гиперполяризацию [что приводит к торможению вследствие удаления мембранного потенциала от порога потенциала действия (ПД)]. Схожий механизм лежит в основе торможения, опосредованного глицином. Поскольку каждый из интернейронов образует связи с тысячами клеток-мишеней, синхронное торможение является важным инструментом синхронизации нейрональных популяций и генерации физиологических паттернов сетевой активности, таких как, например, осцилляции в диапазоне гамма частот или сонные веретена [1, 13, 27]. Нарушение ГАМК-ергического ингибирования вызывает дисбаланс между возбуждением и торможением

нием и как следствие приводит к изменению активности нейрональных сетей. Изменение этого баланса в коре головного мозга часто сопровождаются эпилептическими разрядами. Так, значительное количество врожденных и приобретенных эпилептических синдромов является следствием нарушения работы ГАМК-ергической тормозной системы. Интересно, что при некоторых эпилептических синдромах, а также в результате травмы или гипоксии происходит изменение полярности ГАМКергических ответов из гиперполяризующих превращаются в деполяризующие [7, 18, 44]. Это происходит вследствие увеличения внутриклеточной концентрации ионов хлора и положительного сдвига потенциала реверсии ГАМК-опосредованных ответов (Е-ГАМК). Таким образом, теряется важный компонент ГАМКергического торможения, связанный с гиперполяризацией. Более того, при значительном увеличении внутриклеточной концентрации ионов хлора деполяризующее действие ГАМК может приводить к клеточному возбуждению, т. е. при этом происходит качественное изменение в действии ГАМК с тормозного на возбуждающее.

Если возбуждающее действие ГАМК в ЦНС взрослого млекопитающего проявляется в основном в патологических состояниях, то на ранних этапах онтогенеза возбуждение, производимое активацией ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов, считается правилом [2, 4, 25]. Как и в патологических состояниях, возбуждающее действие ГАМК в онтогенезе объясняется повышенным содержанием ионов хлора в незрелых нейронах и как следствие более положительным, чем потенциал покоя (ПП), значением Е-ГАМК. Деполяризация, вызванная активацией ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов, редко достигает порога генерации потенциала действия (ПД). Однако ГАМК-опосредованная деполяризация приводит к активации потенциал-зависимых кальциевых и натриевых каналов, а также снимает магниевую блокаду глутаматных НМДА-рецепторов, что в результате приводит мембранный потенциал постсинаптической клетки к порогу и вызывает ПД. Поэтому возбуждающее действие ГАМК является, скорее, результатом интеграции ГАМК-, глутамат- и различных потенциал-зависимых проводимостей.

Доказательства деполяризующего и возбуждающего действия ГАМК на незрелые нейроны были получены с помощью самых разнообразных экспериментальных приемов, включая электрофизиологические и оптические методы. Первые эксперименты, в которых было предположено возбуждающее действие ГАМК у детей, были проведены с использованием внутриклеточных методов регистрации [3]. Следует, однако, отметить, что, хотя эти данные были впоследствии подтверждены с помощью менее инвазивных методов, первоначальные результаты, полученные с помощью внутриклеточного отведения, а также пэтч-клампа в конфигурации «целая клетка», несли в себе значительное количество артефактов. В первую очередь это было связано с диализом клетки, приводящим к изменению внутриклеточной концентрации ионов хлора, а также с шунтированием клеточной мембраны через электрическую проводимость, образующуюся в месте введения электрода (или плотного контакта пипетки с мембраной в случае пэтч-кламп регистрации), что приводит к деполяризации ПП [42]. Современными электрофизиологическими методами, с помощью которых было показано деполяризующее и возбуждающее действие ГАМК у детей, являются:

1) *перфорированный пэтч*, при котором электрический доступ к клетке происходит через искусственно встроенные в мембрану катионные каналы, такие как грамицидин, что не приводит к изменению внутриклеточной концентрации хлора [12]; разновидностью этой методики является также и *cell-attached* регистрация с электрическим доступом к клетке посредством калиевых каналов [21];

2) *«cell-attached»* конфигурация пэтч-клампа, при которой по вольт-амперным характеристикам и потенциалу реверсии токов через одиночные ГАМК-активируемые каналы можно напрямую оценить электродвижущую силу, действующую на ионы хлора [37, 41], а по потенциалу реверсии токов через НМДА или калиевые каналы можно оценить значение мембранного потенциала [14, 41, 42, 45]. Так же как и

при *внеклеточной регистрации* ПД (довольно старого и простого неинвазивного метода регистрации), с помощью этой методики по частоте ПД можно установить, оказывает ГАМК возбуждающее или тормозящее действие;

3) *оптические методы*, включающие в себя измерение внутриклеточной концентрации ионов кальция (повышающейся при клеточной деполяризации вследствие активации потенциал-зависимых кальциевых каналов) с помощью кальций-чувствительных флюоресцентных зондов [8]; измерение внутриклеточной концентрации ионов хлора с помощью ион-селективных электродов, флюоресцентного индикатора хлора MQAE [26] и чувствительных к ионам хлора флюоресцентных белков, таких как клонелеон [10, 23] и их аналогов [47]; измерение мембранного потенциала с помощью флюоресцентных потенциал-чувствительных зондов, встраиваемых в клеточную мембрану.

Возбуждающее действие ГАМК на нейроны в процессе развития было показано практически во всех структурах нервной системы животных разных видов. Это позволяет считать, что возбуждающее действие ГАМК является универсальным свойством развивающегося мозга. В связи с этим возникают вопросы о том, какой механизм лежит в основе деполяризующего и возбуждающего действия ГАМК у детей, в чем заключается роль возбуждающего эффекта ГАМК в развитии нервной системы и каким образом этот эффект ГАМК влияет на генерацию синхронной активности в нейрональных сетях. Ниже мы попытаемся ответить на эти вопросы, а также рассмотрим ряд вопросов, которые, по всей вероятности, станут предметом будущих исследований.

#### ПОВЫШЕННАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ИОНОВ ХЛОРА КАК ПРИЧИНА ДЕПОЛЯРИЗУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ГАМК В НЕЗРЕЛЫХ НЕЙРОНАХ

Как уже обсуждалось выше, основной причиной деполяризующего (и соответственно возбуждающего) действия ГАМК является повышенная концентрация ионов хлора в незрелых нейронах, что связано с экспрессией особых транспортеров ионов хлора через клеточную мембрану, набор которых меняется с возрастом [17, 36, 48] (обзоры по регуляции внутриклеточного содержания ионов хлора [2, 3, 33]). С помощью *in situ* гибридизации и ПЦР отдельно взятой клетки было показано, что ко-транспортер НКСС-1, аккумулирующий внутриклеточный хлор, начинает экспрессироваться в нейронах мозга крыс уже в эмбриональном периоде и достигает пика экспрессии на второй неделе после рождения [11]. Вслед за этим происходит постепенное снижение экспрессии НКСС-1, и начиная с четвертой недели после рождения уровень экспрессии становится сравнимым с экспрессией у взрослых животных. Схожие изменения происходят и у человека, при этом пик экспрессии НКСС-1 приходится на период с 30-й по 40-ю недели развития плода. В то же время экспрессия транспортера КСС2, выводящего хлор из клетки, начинается со 2-й недели после рождения и достигает уровня, соответствующего взрослому организму, к началу четвертой недели постнатального развития [36]. Таким образом, повышенная экспрессия «накачивающего» клетки ионами хлора НКСС-1 и практически полное отсутствие выводящего ионы хлора КСС2 способствуют аккумуляции внутриклеточного хлора, что приводит к появлению значительной деполяризующей электродвижущей силы, обеспечивающей выходящий ток ионов хлора при открывании ГАМК-активируемых каналов. Принципиальная роль НКСС-1 в поддержании высокого содержания внутриклеточного хлора и деполяризующего действия ГАМК также подтверждается тем, что буметанид, селективный (в концентрациях до 10  $\mu\text{M}$ ) блокатор НКСС-1 (что лежит в основе его терапевтического использования в качестве мочегонного средства, ингибирующего НКСС-1, экспрессируемый в почках), подавляет деполяризующее и возбуждающее действие ГАМК на незрелые нейроны [41, 43, 48].

## РОЛЬ ДЕПОЛЯРИЗУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ГАМК В ГЕНЕРАЦИИ РАННИХ ПАТТЕРНОВ АКТИВНОСТИ В РАЗВИВАЮЩИХСЯ НЕЙРОНАЛЬНЫХ СЕТЯХ

Деполаризирующее и возбуждающее действие ГАМК имеет немаловажные последствия, определяющие характер активности в развивающихся нейрональных сетях. Как было показано в исследованиях на срезах гиппокампа новорожденных крысят, возрастной период, для которого характерно возбуждающее действие ГАМК (две первые недели после рождения) совпадают с периодом существования особого паттерна сетевой активности — так называемых гигантских деполаризирующих потенциалов (ГДП) [3, 19]. ГДП являются сетевыми разрядами, напоминающими интериктальные эпилептиформные разряды, во время которых происходит активация как пирамидных клеток, так и интернейронов во временном окне, составляющем сотни миллисекунд, активация клеток во время ГДП является результатом синергичного возбуждающего действия глутамата и ГАМК [5, 20, 25]. Характерным для ГДП является то, что возбуждение возникает в срезе гиппокампа не одновременно во всех его участках, а, скорее, напоминает волну, которая зарождается в области СА3, и затем проводится по всему срезу [28]. Наиболее выражено волновая природа ГДП проявляется в интактном гиппокампе *in vitro*: в этом препарате ГДП обычно зарождаются в септальной части гиппокампа и проводятся с задержкой до 0.5 с в височном направлении [24]. Причиной столь медленного проведения ГДП является длительная и переменная задержка проведения возбуждения в ГАМК-ергических синапсах [43].

Недавние исследования показали, что концентрация ионов хлора в постсинаптической клетке определяет временные характеристики возбуждения в развивающемся ГАМК-ергическом синапсе: чем выше концентрация внутриклеточного хлора, тем короче задержка возникновения ПД в постсинаптическом нейроне [43]. При физиологических значениях внутриклеточной концентрации хлора передача возбуждения в ГАМК-ергическом синапсе довольно медленная — ПД возникают с большой (до сотен миллисекунд) и очень переменной задержкой. Связано это с тем, что деполаризация, вызванная активацией ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов, редко достигает порогового уровня и для генерации ПД требует дополнительной активации подпороговой неактивируемой натриевой проводимости [38, 39, 43]. Интересно, что уменьшение внутриклеточного содержания хлора путем частичного блокирования НКСС-1 с помощью низких концентраций буметанида вызывает существенное удлинение задержек в возбуждающих ГАМК-синапсах, что сопровождается сильным замедлением скорости проведения ГДП. Полное блокирование НКСС-1 полностью подавляет возбуждающее действие ГАМК и приводит к исчезновению ГДП. Схожие с ГДП паттерны активности, в генерации которых также принимает участие возбуждающая ГАМК, были описаны в различных структурах развивающейся нервной системы.

## РОЛЬ ДЕПОЛЯРИЗУЮЩЕГО ЭФФЕКТА ГАМК В РАЗВИТИИ НЕЙРОНОВ И ФОРМИРОВАНИИ СИНАПТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ

В то время как роль возбуждающего эффекта ГАМК в генерации ГДП хорошо изучена, значительно менее изученным остается вопрос о том, в чем заключается физиологическая роль ГДП и собственно возбуждающего действия ГАМК. Следует отметить, что на ранних этапах онтогенеза синапсы между нейронами только формируются и их количество очень невелико. В условиях малого количества контактов между клетками синхронизация нейрональных ансамблей может достигаться за счет возбуждающего действия ГАМК. Таким образом, роль возбуждающего эффекта ГАМК может заключаться в обеспечении минимального уровня возбуждения, необходимого для синхронизации нейрональных ансамблей. По-

только ГДП обеспечивают синхронную активацию пре- и постсинаптических нейронов, а также НМДА-рецепторов, что является одним из механизмов синаптической пластичности по Хеббу, было предположено, что это может приводить к долговременным изменениям в эффективности синаптической передачи и, таким образом, принимать участие в формировании нейрональной сети [30]. Другим последствием ГДП являются синхронные осцилляции внутриклеточного кальция — важного для развития фактора [15, 16, 25], а также секреция факторов роста, таких как BDNF [22]. Еще одним результатом повышенного содержания внутриклеточного хлора может быть увеличение внутриклеточного осмотического давления, что должно создавать благоприятные условия для увеличения площади клеточной мембраны и для роста нейронов по аналогии с механизмом, действующим при регенерации нейронов после аксотомии (где также наблюдается активация NKCC-1 и приобретение деполяризующего ГАМК-фенотипа) [32]. Ряд недавних исследований с хроническим воздействием буметанида в ходе эмбрионального и неонатального развития крысят показал, что блокирование NKCC-1 действительно приводит к существенному отставанию клеточного роста и дифференцировки, а также замедлению синаптогенеза [46]. Схожие наблюдения были получены при искусственной экспрессии в эмбриональных нейронах KCC2 [34].

### РЕГУЛЯЦИЯ ВОЗБУЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ГАМК

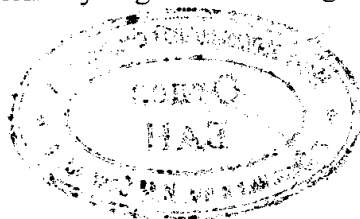
Помимо возрастной смены действия ГАМК с возбуждающего на тормозное, связанной с изменением экспрессии хлорных транспортеров, существуют гуморальные механизмы регуляции возбуждающего действия ГАМК на незрелые нейроны. Наиболее ярким примером такой модуляции является временное переключение в действии ГАМК с возбуждающего на тормозное в мозге плода крыс, происходящее под действием окситоцина во время родов [41]. Окситоцин является гормоном нейрогипофиза, вызывающим сокращение матки во время родов. Однако, помимо этого, он проникает через плацентарный и гематоэнцефалический барьер плода и вызывает падение внутриклеточной концентрации ионов хлора, сопровождаемое сдвигом  $E_{\text{ГАМК}}$  в область отрицательных значений и потерей возбуждающего действия ГАМК на нейроны коры плода. Эффекты окситоцина на ГАМКергическую передачу развиваются очень быстро (в течение нескольких минут) и столь же быстро исчезают при устранении окситоцина. По своему эффекту действие окситоцина напоминает действие буметанида, поэтому было предположено, что мишенью для окситоцина является NKCC-1. В чем же может заключаться физиологическая роль устранения возбуждающего действия ГАМК во время родов? Оказалось, что депривация возбуждающего действия ГАМК приводит к значительному увеличению резистентности нейронов к ишемии, которая всегда является серьезной угрозой для мозга плода во время родов. Помимо этого, посредством модуляции ГАМКергической передачи в ноцицептивных нейронах окситоцин оказывает обезболивающее действие, что, очевидно, превращает боль, вызванную сдавливанием плода в родовом канале в процессе родов.

Еще одним примером гуморальной модуляции является модуляция серотонином возбуждающего действия глицина (активирующего схожие с ГАМК-активируемыми хлорные каналы) у развивающихся рыбок Данио-рерио (*Danio rerio*) [6]. Во время формирования локомоторной нейрональной сети эндогенный серотонин усиливает двигательную активность, уменьшая длительность неактивных периодов, но не влияя на двигательные периоды. Блокаторы серотониновых рецепторов увеличивали длительность периодов неактивности, что было связано с уменьшением деполяризующих эффектов глицина на спинальные нейроны, и эти эффекты как на уровне двигательного поведения, так и на уровне деполяризующего действия глицина воспроизводились буметанидом.

Очевидно, что окситоцин и серотонин являются лишь одними из немногих идентифицированных на сегодняшний день модуляторов возбуждающего эффекта ГАМК и глицина и, вероятно, что круг этих модуляторов весьма широк. В будущих исследованиях было бы весьма интересно установить полный перечень этих модуляторов и их связь с поведенческими функциями, а также с различными биологическими циклами в развивающемся организме. При решении этой задачи неизбежным станет регистрация ответов, вызываемых ГАМК в интактном животном *in vivo*. Следует отметить, что все данные относительно деполяризующего и возбуждающего действия ГАМК на незрелые нейроны были получены на препаратах срезов мозга или изолированных клетках, и до сих пор остается открытым вопрос о том, как действует ГАМК на незрелые нейроны *in vivo*. Очевидно, что в условиях *in vitro* невозможно в полной мере воспроизвести ситуацию *in vivo*. Это касается как состава внеклеточной жидкости, включая электролиты, метаболиты и гуморальные факторы, так и доставки кислорода и удаления углекислого газа, а также проблем, связанных с травмой, наносимой нейронам во время нарезки срезов или их выделения для культуры и т. д. В связи с этим недавно появилось предположение о том, что возбуждающее действие ГАМК, наблюдаемое на срезах мозга, является артефактом неадекватного состава искусственной цереброспинальной жидкости, используемой при регистрации срезов, а именно следствием отсутствия кетоновых тел [35]. Кетоновые тела (гидроксипируват, ацетоацетат и ацетон), а также лактат и пируват наряду с глюкозой являются важными метаболитами, однако в качестве энергетического субстрата в традиционно используемом внеклеточном растворе присутствует только глюкоза. Добавление гидроксипирувата к составу традиционного раствора приводило к полному устранению деполяризующего и возбуждающего действия ГАМК на незрелые нейроны в срезах гиппокампа новорожденных крысят, а также блокировало ГДП. К сожалению, попытки повторить эти результаты в нескольких лабораториях не увенчались успехом [21, 40]. Вместе с тем пируват в миллимолярных концентрациях действительно подавляет ГДП, однако эти концентрации на порядок превышают физиологические, в то время при физиологических концентрациях пируват не оказывает значительного влияния на Е-ГАМК и ГДП. Хотя гуморальная регуляция Е-ГАМК представляет определенный интерес, ключевым все же остается вопрос о том, как действует ГАМК в развивающемся мозге *in vivo*, и этот вопрос является на сегодня одним из наиболее актуальных в данной области. Несомненный интерес также представляет вопрос о том, как данные о возбуждающем действии ГАМК, полученные главным образом в экспериментах на лабораторных животных — крысах и мышах — соотносятся с человеческим организмом. Хотя профиль экспрессии хлорных транспортеров предполагает деполяризующее действие ГАМК у плода человека на внутриутробных этапах развития [11], экспериментальное доказательство существования этого феномена у человека пока отсутствует. Ответ на этот вопрос будет важным для понимания того, как функционирует мозг плода *in utero*, а также для разработки методов лечения заболеваний нервной системы, учитывающих возрастные изменения в действии ГАМК.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Bartos M., Vida I., Jonas P. Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. *Nat. Rev. Neurosci.* 8 (1): 45—56. 2007.
- [2] Ben Ari Y., Gaiarsa J. L., Tyzio R., Khazipov R. GABA: A pioneer transmitter that excites immature neurons and generates primitive oscillations. *Physiol. Rev.* (87): 1215—1284. 2007.
- [3] Ben-Ari Y., Cherubini E., Corradetti R., Gaiarsa J.-L. Giant synaptic potentials in immature rat CA3 hippocampal neurones. *J. Physiol. (Lond.)*. (416): 303—325. 1989.
- [4] Ben-Ari Y., Khazipov R., Leinekugel X., Caillard O., Gaiarsa J.-L. GABA<sub>A</sub>, NMDA and AMPA receptors: a developmentally regulated 'ménage a trois'. *Trends Neurosci.* 20 (11): 523—529. 1997.



- [5] Bolea S., Avignone E., Berretta N., Sanchez-Andres J. V., Cherubini E. Glutamate controls the induction of GABA-mediated giant depolarizing potentials through AMPA receptors in neonatal rat hippocampal slices. *J Neurophysiol.* 81 (5): 2095—2102. 1999.
- [6] Brustein E., Drapeau P. Serotonergic modulation of chloride homeostasis during maturation of the locomotor network in zebrafish. *J. Neurosci.* 25: 10 607—10 616. 2005.
- [7] Cohen I., Navarro V., Clemenceau S., Baulac M., Miles R. On the origin of interictal activity in human temporal lobe epilepsy in vitro. *Science.* 298 (5597): 1418—1421. 2002.
- [8] Connor J. A., Tseng H. Y., Hockberger P. E. Depolarization- and transmitter-induced changes in intracellular  $Ca^{2+}$  of rat cerebellar granular cells in explant cultures. *J. Neurosci.* 7: 1384—1400. 1987.
- [9] Delpire E. Cation-chloride cotransporters in neuronal communication. *News Physiol. Sci.* 15 (6): 309—312. 2000.
- [10] Duebel J., Haverkamp S., Schleich W., Feng G., Augustine G. J., Kuner T., Euler T. Two-photon imaging reveals somatodendritic chloride gradient in retinal ON-type bipolar cells expressing the biosensor clomeleon. *Neuron.* 49 (1): 81—94. 2006.
- [11] Dzhalala V. I., Talos D. M., Sdrulla D. A., Brumback A. C., Mathews G. C., Benke T. A., Delpire E., Jensen F. E., Staley K. J. NKCC1 transporter facilitates seizures in the developing brain. *Nat. Med.* 11 (11): 1205—1213. 2005.
- [12] Ebihara S., Shirato K., Harata N., Akaike N. Gramicidin-perforated patch recording: GABA response in mammalian neurones with intact intracellular chloride. *J. Physiol. (Lond.)* 484 (Pt 1): 77—86. 1995.
- [13] Freund T., Buzsaki G. Interneurons of the hippocampus. *Hippocampus.* 6: 345—470. 1996.
- [14] Fricker D., Verheugen J. A., Miles R. Cell-attached measurements of the firing threshold of rat hippocampal neurones. *J. Physiol.* 517 (Pt 3): 791—804. 1999.
- [15] Garaschuk O., Hanse E., Konnerth A. Developmental profile and synaptic origin of early network oscillations in the CA1 region of rat neonatal hippocampus. *J. Physiol.* 507 ( Pt 1): 219—236. 1998.
- [16] Garaschuk O., Linn J., Eilers J., Konnerth A. Large-scale oscillatory calcium waves in the immature cortex. *Nature.* 3 (5): 452—459. 2000.
- [17] Kakazu Y., Akaike N., Komiyama S., Nabekura J. Regulation of intracellular chloride by cotransporters in developing lateral superior olive neurons. *J. Neurosci.* 19 (8): 2843—2851. 1999.
- [18] Khalilov I., Holmes G. L., Ben Ari Y. In vitro formation of a secondary epileptogenic mirror focus by interhippocampal propagation of seizures. *Nat. Neurosci.* 6 (10): 1079—1085. 2003.
- [19] Khazipov R., Khalilov I., Tyzio R., Morozova E., Ben Ari Y., Holmes G. L. Developmental changes in GABAergic actions and seizure susceptibility in the rat hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 19 (3): 590—600. 2004.
- [20] Khazipov R., Leinekugel X., Khalilov I., Gaiarsa J.-L., Ben-Ari Y. Synchronization of GABAergic interneuronal network in CA3 subfield of neonatal rat hippocampal slices. *J. Physiol. (Lond.)* 498 (3): 763—772. 1997.
- [21] Kirmse K., Witte O. W., Holthoff K. GABA depolarizes immature neocortical neurons in the presence of the ketone body  $\alpha$ -hydroxybutyrate. *J. Neurosci.* 30 (47): 16 002—16 007. 2010.
- [22] Kuczewski N., Porcher C., Ferrand N., Fiorentino H., Pellegrino C., Kolarow R., Lesmann V., Medina I., Gaiarsa J. L. Backpropagating action potentials trigger dendritic release of BDNF during spontaneous network activity. *J. Neurosci.* 28: 7013—7023. 2008.
- [23] Kuner T., Augustine G. J. A genetically encoded ratiometric indicator for chloride: capturing chloride transients in cultured hippocampal neurons. *Neuron.* 27 (3): 447—459. 2000.
- [24] Leinekugel X., Khalilov I., Ben-Ari Y., Khazipov R. Giant depolarizing potentials: the septal pole of the hippocampus paces the activity of the developing intact septohippocampal complex in vitro. *J. Neurosci.* 18 (16): 6349—6357. 1998.
- [25] Leinekugel X., Medina I., Khalilov I., Ben-Ari Y., Khazipov R.  $Ca^{2+}$  oscillations mediated by the synergistic excitatory actions of GABA<sub>A</sub> and NMDA receptors in the neonatal hippocampus. *Neuron.* 18 (2): 243—255. 1997.
- [26] Marandi N., Konnerth A., Garaschuk O. Two-photon chloride imaging in neurons of brain slices. *Pflügers Arch.* 445: 357—365. 2002.
- [27] McCormick D. A., Bal T. Sleep and arousal: thalamocortical mechanisms. *Annu Rev Neurosci.* 20: 185—215. 1997.
- [28] Menendez P., Bolea S., Sanchez-Andres J. V. Origin of the synchronized network activity in the rabbit developing hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 10 (3): 899—906. 1998.

