

епараты — протестикулин, про-

Н. Синицкий) проводит исследование больницы им И. П. Павлов служит Киевская областная исследование ведутся совместно В УССР. В лаборатории изучается деятельности человека в норме яется экспериментальные исследе-

медико-биологической станции не влияния горного климата и человека к гипоксии. Получен-тики и лечения ряда заболе-

кого анализа и моделирования (рский) разрабатывает методы гическом эксперименте, на ба-зации физиологического экспе-назначенные для научных ис-

Нейрофизиология» и «Физиоло-

омольца АН УССР координи-р проблемам «Физиология че-и является головным по теме дународной программе сотруд-ких стран — «Интермозг». Ин-и союзных и республиканских оз», «Мировой океан», «Мем-», «Иммунология». По этим водит комплексные исследова-наук социалистических стран, Министрства здравоохранения его специального образования

ых механизмов возбудимости ов института (П. Г. Костюк, Пидопличко) присуждена Го-

аппаратуры для электрофи-чных сотрудников института а во главе с академиком ной премии УССР в области а цикл работ по физиологии области науки и техники при-кову.

науки и подготовке высоко-езидиума Верховного Совета ологии им. А. А. Богомольца намен.

ИССЛЕДОВАНИЯ ЭЛЕКТРОУПРАВЛЯЕМЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ СОМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ НЕРВНОЙ КЛЕТКИ

Структурную основу плазматической мембраны образует бимолекулярный липидный слой. Обладая низкой диэлектрической постоянной, он представляет собой значительный энергетический барьер для перемещения малых ионов из водной среды в мембрану. Пассивное перемещение ионов через поверхностную мембрану осуществляется благодаря наличию в ней «ионных каналов». Они являются интегральными белками мембраны и проходят через всю ее толщу. Функцию ионных каналов сопоставляют с функцией ферментов. Если для переноса ионов калия из водной среды в липидный матрикс мембраны необходимо совершить работу, составляющую приблизительно 250 кДж/моль, то при диффузии ионов калия через мембрану по калиевым каналам энергетический барьер составляет лишь около 20 кДж/моль [53]. По аналогии с ферментативными реакциями, при диффузии ионов по ионным каналам наблюдают эффект насыщения при высоких концентрациях ионов; обнаружено конкурентное блокирование ионных каналов; каналы специфичны, т. е. обладают ионной избирательностью.

Электрическую возбудимость клеток связывают с электроуправляемыми ионными каналами плазматической мембраны. В них имеются «воротные» механизмы, благодаря которым они открываются (активируются) и закрываются (деактивируются или инактивируются) в ответ на изменение напряженности электрического поля в мембране. Ионные каналы обычно классифицируют на основании их избирательности. Различают натриевые, калиевые, кальциевые, хлорные каналы. В некоторых возбудимых клетках электроуправляемые ионные каналы, обладающие сходной избирательностью, отличаются по своим потенциалозависимым свойствам, кинетике активации и инактивации, фармакологическим характеристикам.

В настоящее время установлено, что свойства возбудимой мембраны различных частей нервной клетки: сомы, дендритов, аксона, нервных окончаний заметно отличаются. Различия, в частности, обнаруживаются в ионных механизмах генерации потенциалов действия. Если при возникновении нервного импульса в аксоне основными переносчиками входящего тока являются ионы натрия, а роль ионов кальция в переносе тока ничтожна, то в нервных окончаниях и в дендритах роль ионов кальция как переносчика тока во время потенциала действия весьма значительна. Обнаружены нейроны, в которых возникновение потенциала действия обусловлено ростом как натривой, так и кальциевой проводимости мембраны сомы [29, 30, 31, 33].

В Институте физиологии им. А. А. Богомольца АН УССР в отделе общей физиологии нервной системы на протяжении ряда лет ведутся интенсивные исследования ионных механизмов, обеспечивающих электрическую возбудимость соматической мембраны нервной клетки. В настоящей статье суммируются полученные по этому вопросу экспериментальные данные и проводится их сопоставление с результатами исследований других лабораторий.

Электрическая активность сомы нервной клетки. Использование в исследованиях нервных клеток внутриклеточных микроэлектродов и строго локализованного внеклеточного отведения позволило обнаружить, что порог возникновения потенциала действия в соме заметно выше, чем в аксоне [8, 11]. Для сомы нейрона характерны более сложные формы электрической активности, чем для аксона и, соответственно, в соматической мембране обнаружено больше разновидностей электроуправляемых ионных каналов, чем в аксональной.

Во многих случаях небольшие размеры сомы нервной клетки, а

также примыкающие к ней аксон и дендриты могут быть серьезным препятствием для изолированного изучения свойств соматической мембраны. Наиболее подробные и достоверные сведения об электроуправляемых ионных каналах соматической мембраны и об ее свойствах получены при изучении гигантских униполярных нейронов моллюсков. Значительным преимуществом исследований на нейронах моллюсков является также возможность работы на идентифицированных клетках.

Важной особенностью соматической мембраны гигантских нейронов моллюсков является ее высокое сопротивление в состоянии покоя. У нейронов моллюска *Planorbis* оно достигает 200 кОм/см². На основании измерений электрической емкости мембраны было установлено, что площадь поверхности сомы гигантских нейронов благодаря складчатости во много раз превышает площадь поверхности шара, имеющего такой же диаметр, как и сома [11]. Сомы нейронов моллюсков окружена капсулой из глиальных клеток. Их многочисленные отростки глубоко внедряются в сому. Глубокие инвагинации поверхности сомы, заполненные отростками глиальных клеток, могут создавать условия для замедленной диффузии веществ из наружного раствора в примембранное пространство сомы.

Оокура и сотр. [60] обнаружили, что нейроны моллюска *Onchidium* сохраняют способность давать потенциалы действия в безнатриевой среде при наличии в ней ионов кальция. Последующие исследования на нейронах моллюсков, проведенные Костюком и сотр. [2, 8], показали, что возможность генерации потенциалов действия в безнатриевой среде обусловлена тем, что роль переносчиков входящего тока выполняют не только ионы натрия, но и кальция. Эти данные были подтверждены многими исследователями [17, 52, 55, 63].

Участие ионов кальция в возникновении потенциалов действия в соме было впоследствии показано на нейронах насекомых [61], ракообразных [20], кольчатых червей [21], амфибий [22], млекопитающих [62, 65].

На нейронах моллюсков обнаружены сложные перестройки в механизмах генерации потенциалов действия в соме во время ритмического разряда. При возникновении нескольких потенциалов действия, следующих друг за другом с интервалом не более 200 мс, легко обнаружить заметные различия в их течении. Они обусловлены инактивацией транспортного механизма для натриевого тока, инактивацией калиевой проводимости мембраны, возрастанием роли ионов кальция в переносе входящего тока [58]. Изменение роли кальциевых каналов во время ритмического разряда четко проявляется при введении в наружный раствор ионов бария, являющихся более эффективными переносчиками тока по кальциевым каналам, чем сами ионы кальция. Эффект ионов бария также связан с их способностью подавлять калиевую проводимость мембраны [11]. Блокаторы калиевых каналов — ионы тетраэтиламмония также являются весьма удобным инструментом для выявления изменений в проводимости мембраны, происходящих во время ритмического разряда. На нейронах моллюска *Limnea* было показано, что на протяжении разряда инактивируются те калиевые каналы, которые менее чувствительны к действию тетраэтиламмония. Инактивация этих каналов повышает эффективность механизма генерации потенциалов действия в соме [58].

Возможность регуляции электрической активности соматической мембраны наиболее четко продемонстрирована на нейронах, обладающих «пачечной» активностью. На идентифицированном пачечном нейроне виноградной улитки ППА1 (по классификации Сахарова) обнаружены длительные спонтанные изменения электрической активности. Они могут происходить синхронно с изменением мембранного потенциала в других нейронах. Изменения активности нейрона ППА1 также могут быть вызваны аппликацией на сому пептида, полученного из гомогената мозга улитки. Этот пептид был обозначен как «модулирующий фактор». Предполагают, что этот фактор может быть нейро-

медиатором или нейромодулятором [23, 24, 25]. Не исключено, что он стимулирует аденилатциклические нуклеотидовые реакции к генерации в ожидании такого предположения. Внутрь идентифицированной мембраны нейрона вызывало деполяризацию потенциалов — появлению следовал более быстрый рост проницаемости. Поздний выходящий водимости мембраны, выходящий.

В соматической мембране электрогенный эффект активировать его механизм — «насосный» ток, фиксации потенциала не исследованы особенности портного механизма по ионам натрия. Описана активность электрогенной мембраны вследствие физиологических процессов.

Ионные каналы соматической мембраны используются для исследования механизмов работы нейронах моллюсков, в частности в ней электроуправляемых ионных каналов, таковы, для других возбудимых мембран на изменения мембраны по этим каналам, тельно затрудняет их из-за их каналов. При фиксации *in situ* электрической активности мембраны вносит некоторую ошибку, эффективным путем ее устранения техника исследования приводит также к разрыву глиальных клетками, экспериментальных данных млекопитающих используются для изучения поверхности мембраны.

Важным этапом в исследовании мембраны явилась разделение токов, содержащегося в мембране, в соматической мембране среды на функцию ионного тока.

Метод внутриклеточной фиксации потенциалов был успешно использован для исследования мембраны нейронов спинальных ганглий [50, 51], клеток нейронов ряда зарубежных лабораторий.

Калиевые каналы в мембране нейрона ППА1 также были описаны по Хаксли [35]. Было обнаружено, что ионизированный калий

дендриты могут быть серьезным источником свойств соматической мембраны. Сведения об электроуправлении мембраны и об ее свойствах в полярных нейронах моллюсков, в частности на нейронах моллюсков, идентифицированных клетках, мембраны гигантских нейронов, сопротивление в состоянии покоя, достигает 200 кОм/см². На основных мембранах было установлено, что нейроны благодаря складчатости поверхности шара, имеющие их многочисленные отростки, инвагинации поверхности сомы, могут создавать условия наружного раствора в прием-

то нейроны моллюска *Onchidium* действия в безнатрие-Костюком и сотр. [2, 8], потенциалов действия в безнатрие-носчиков входящего тока вы-52, 55, 63].

ении потенциалов действия в нейронах насекомых [61], рако-амфибий [22], млекопита-

и сложные перестройки в мембране в соме во время ритмических потенциалов действия, менее 200 мс, легко обнаружены инактивацией тока, инактивацией калиевой ионы калия в переносчиках калиевых каналов во время введения в наружный раствор эффективными переносчиками ионы калия. Эффект ионов подавлять калиевую проводимость каналов — ионы тетра-бым инструментом для вы-ионы, происходящих во время моллюска *Limnea* было показано, что те калиевые каналы, которые встраиваются в мембрану, инактивация механизма генерации по-

и активности соматической мембраны на нейронах, обладающих пачечным нейронификации (Сахарова) обнаружения электрической активности. Изменением мембранного потенциала нейрона ППаI также у пептида, полученного из обозначен как «модулирующий» фактор может быть нейро-

медиатором или нейрогормоном, секретлируемым другими нейронами [23, 24, 25]. Не исключена возможность, что «модулирующий фактор» стимулирует аденилат- и, возможно, гуанилат-циклазу, локализованную в мембране нейрона ППаI. Вызванное этим повышение уровня циклических нуклеотидов в цитоплазме нейрона приводит через цепь реакций к генерации в нейроне пачечной активности [27]. Подтверждением такого предположения являются эксперименты с введением внутрь идентифицированных интактных нейронов 3'-5'-цАМФ. Это введение вызвало деполяризацию мембраны [10, 27], а в условиях фиксации потенциала — появление входящего тока (цАМФ-тока), за которым следовал более слабый выходящий ток [27]; цАМФ ток связан с ростом проницаемости мембраны для ионов натрия, калия и кальция. Поздний выходящий ток связан, вероятно, с ростом калиевой проницаемости мембраны, вызванным притоком Ca^{2+} в клетку [27].

В соматической мембране нейронов моллюсков четко проявляется электрогенный эффект активного транспорта ионов. Если искусственно активировать его механизм, то возникает ионный трансмембранный ток — «насосный» ток, который можно измерить, используя технику фиксации потенциала на мембране. В нашей лаборатории подробно исследованы особенности «насосного» тока во время активации транспортного механизма посредством введения в нервную клетку избытка ионов натрия. Описана его потенциалзависимость. Показана возможность активации электрогенного транспорта ионов в соматической мембране вследствие физиологической активности клетки [26, 28, 41].

Ионные каналы соматической мембраны нервной клетки. Благодаря использованию фиксации потенциалов на соматической мембране нейронов моллюсков получены строгие доказательства существования в ней электроуправляемых натриевых, кальциевых и нескольких разновидностей калиевых каналов [8, 11]. Свойства этой совокупности ионных каналов таковы, что они обеспечивают возникновение необычных для других возбудимых образований реакций соматической мембраны на изменения мембранного потенциала [11, 52]. Ионные токи, текущие по этим каналам, накладываются друг на друга. Это значительно затрудняет их изучение и количественное описание свойств ионных каналов. При фиксации потенциалов на нейронах, находящихся *in situ*, электрическая активность неконтролируемых областей аксона вносит некоторую ошибку в измерение ионных токов. Наиболее эффективным путем ее устранения оказалась разработанная в нашем Институте техника исследований на изолированных нейронах. Изоляция приводит также к разрушению барьеров для диффузии, создаваемых глияльными клетками, что существенно облегчает интерпретацию экспериментальных данных [37—40]. На изолированных нервных клетках млекопитающих успешно применен метод микроэлектрофореза с целью изучения поверхностного заряда нейронов [3].

Важным этапом в изучении свойств ионных каналов соматической мембраны явилась разработка метода внутриклеточной перфузии изолированных нейронов. Контролируемые изменения внутриклеточного содержимого в условиях перфузии позволили осуществить эффективное разделение токов, текущих по различным типам ионных каналов соматической мембраны, а также изучать влияние внутриклеточной среды на функцию ионных каналов [32, 35, 42].

Метод внутриклеточной перфузии [32, 35, 42] с фиксацией потенциалов был успешно использован и для изучения свойств соматической мембраны нейронов спинальных ганглиев лягушки [1], крысы [16, 49, 50, 51], клеток нейробластомы мыши [44]. Затем он был применен в ряде зарубежных лабораторий [32].

Кальциевые каналы. На перфузируемых нейронах в условиях фиксации потенциала кальциевые токи успешно выделены и количественно описаны посредством математической модели Ходжкина — Хаксли [35]. Было обнаружено, что рост внутриклеточной концентрации ионизированного кальция приводит к подавлению кальциевого то-

ка [36]. Это обстоятельство впоследствии было учтено при разработке гипотезы о токозависимом механизме инактивации кальциевых каналов [4, 14]. Были зарегистрированы асимметричные токи смещения, которые связывали с функцией «воротных» механизмов кальциевых каналов [43].

Исследования на внутриклеточно перфузируемых нейронах моллюсков и спинальных ганглиев крыс позволили установить зависимость функционального состояния кальциевых каналов от внутриклеточного метаболизма. Основой изучения этой зависимости было обнаружение постепенного уменьшения кальциевого тока у внутриклеточно перфузируемых нейронов на протяжении перфузии. У интактных же нейронов он значительно более стабилен. В этой связи было высказано предположение, что в цитоплазме нервной клетки имеется какой-то фактор, необходимый для нормального функционирования кальциевых каналов. Внутриклеточная перфузия приводит к постепенному вымыванию этого фактора. В исследованиях на нейронах моллюсков и ганглиях дорсальных корешков крысы показано, что добавление во внутриклеточный перфузат экзогенной циклической АМФ (цАМФ) вместе с АТФ и ионами магния предотвращает уменьшение кальциевого тока во время перфузии, и частично, а иногда и полностью восстанавливает его до исходной величины. Спустя некоторое время более медленное уменьшение кальциевого тока вновь возобновляется [15, 49]. Изолированное введение в нейрон перечисленных выше агентов не вызывает восстановления кальциевого тока. Анионы фтора обладают способностью стимулировать синтез цАМФ. Добавление их в перфузат вместе с АТФ и Mg^{2+} оказывает такое же влияние на кальциевые токи, как и введение в нейрон цАМФ. На основании описанных выше исследований был сделан вывод, что способность электроуправляемых кальциевых каналов соматической мембраны функционировать тесно связана с уровнем внутриклеточной цАМФ. Его понижение может быть обусловлено не только вымыванием, но и интенсивным гидролизом цАМФ-фосфодиэстеразой [15].

Описанный эффект введения внутрь нейрона цАМФ, по-видимому, опосредован цАМФ-зависимой протеинкиназой, которая осуществляет перенос фосфата от АТФ на определенную функциональную группу кальциевого канала. После этого он приобретает способность активироваться. Понижение внутриклеточного уровня цАМФ приводит к увеличению количества дефосфорилированных кальциевых каналов. Такое предположение подтверждается экспериментами на нейронах виноградной улитки, в которых оказывали непосредственное воздействие на цАМФ-зависимое фосфорилирование. Внутри перфузируемой клетки вводили толбутамид — ингибитор цАМФ-зависимой протеинкиназы и каталитическую субъединицу цАМФ-зависимой протеинкиназы, выделенной из миокарда кролика. Внутриклеточное введение толбутамида вызывало быстрое уменьшение кальциевого тока, который был стабилизирован теофилином (ингибитором цАМФ-фосфодиэстеразы). Когда же в нейрон вводили экзогенную каталитическую субъединицу цАМФ-зависимой протеинкиназы с АТФ и Mg^{2+} , происходила стабилизация кальциевого тока или же восстановление, если он был подавлен [6, 7].

Определенная информация о молекулярных механизмах, лежащих в основе ионной избирательности кальциевых каналов, была получена в экспериментах с модификацией функции этих каналов. В экспериментах на изолированных нейронах виноградной улитки в условиях внутриклеточной перфузии обнаружено, что добавление к бескальциевому раствору кальций-связывающих соединений (ЭДТА, ЭГТА) приводит к появлению медленного потенциалзависимого входящего тока. Этот ток уменьшался на 40—60 % после добавления в наружный раствор блокаторов кальциевых каналов верапамила ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) или D-600 (10^{-5} моль/л). Ток был идентифицирован как натриевый, текущий по кальциевым каналам, которые в описанных условиях приобретают способность пропускать одновалентные катионы [36]. Такая мо-

дификация селективности вследствие удаления двухвалентных катионов. Потенциалзависимые характеристики каналов по сравнению с x находятся на 60—70 мВ в i ная проницаемость модифицированных катионов характеризуется соотношением: $P_{Li}:P_{Na}:P_{K}:P_{NH_4} = 1,0:0,8:0,4:0,2$. Селективность определена для

Для объяснения механизма бескальциевых растворов, ния, высказано предположение, что селективный фильтр, выпущенный из кальциевого канала, образованный, вероятно, связывает Ca^{2+} , а препятствует прохождению катионов. Во второй селективный блоксильная группа, которая связывает одновалентные катионы [36].

Перемещение ионов стоящее время как предположение. Для количественного описания скоростей реакций с одновалентными катионами, то наличие определяет энергетический барьер. Участки, создающие ионный канал, представляют собой в канале характеризуются энергетическими барьерами. Несколько одновременно задерживать кулоновские силы и скорости реакций успешны в кальциевом канале транспорта в кальциевом канале. В ней предусмотрены различные скорости протекания примембранных конформационных изменений. Рассчитана константа, связывающая участки мембраны.

Данные, основанные по кальциевым каналам, ре другими двухвалентными катионами: $Ba^{2+}:Sr^{2+}:Ca^{2+}:Mg^{2+} = 2,0:1,0:1,0:0,2$. Селективность характеризуется соотношением: $P_{Li}:P_{Na}:P_{K}:P_{NH_4} = 1,0:0,8:0,4:0,2$. Селективность определена для

В связи с высокой проницаемостью кальциевых каналов, их не изучали свойства кальциевых каналов, которые в описанных условиях приобретают способность пропускать одновалентные катионы [36]. Такая мо-

ни было учтено при разработке инактивации кальциевых каналов симметричные токи смещения, их» механизмов кальциевых ка-

перфузируемых нейронах позволили установить зависимость каналов от внутриклеточного ависимости было обнаружение у внутриклеточно перфузии. У интактных же нейронов связи было высказано предположение, что имеется какой-то фактор, ирования кальциевых каналов. постепенному вымыванию этого иоллюсков и ганглиев дорсаль-бавление во в утриклеточный (цАМФ) вместе с АТФ и по е кальциевого тока во время остью восстанавливает его до ремя более медленное умень-ается [15, 49]. Изолированное агентов не вызывает восста-тора обладают способностью е их в перфузат вместе с АТФ кальциевые токи, как и введе-анных выше исследований был правляемых кальциевых кана-ровать тесно связана с уровне-ние может быть обусловлено м гидролизом цАМФ-фосфо-

нейрона цАМФ, по-видимому, изацией, которая осуществляет ную функциональную группу обретает способность активи-рования цАМФ приводит к уве-их кальциевых каналов. Такое-ентами на нейронах виноград-средственное воздействие на уть перфузируемой клетки-зависимой протеинкиназы и-симой протеинкиназы, выде-очное введение толбутамида-го тока, который был стаби-МФ-фосфодиэстеразы). Когда-ическую субъединицу цАМФ-т, происходила стабилизация-если он был подавлен [6, 7].-ярных механизмах, лежащих-ых каналов, была получена-и этих каналов. В экспери-градной улитки в условиях-то добавление к бескальцие-инений (ЭДТА, ЭГТА) при-зависимого входящего тока, добавления в наружный рас-памила ($5 \cdot 10^{-5}$ моль/л) или-рован как натриевый, теку-писанных условиях приобре-ые катионы [36]. Такая мо-

дификация селективности кальциевых каналов рассматривается как следствие удаления двухвалентных катионов из внеклеточной среды. Потенциалзависимые характеристики модифицированных кальциевых каналов по сравнению с характеристиками нормальных каналов смещаются на 60—70 мВ в направлении гиперполяризации. Относительная проницаемость модифицированных кальциевых каналов для одновалентных катионов характеризуется такой последовательностью: $P_{Na}:P_{Rb}:P_{N_4H}:P_{NH_4OH}=1,0:0,8:0,55:0,21$. Сходная последовательность избирательности определена для натриевых каналов [5, 48].

Для объяснения механизмов модификации кальциевых каналов в бескальциевых растворах, содержащих кальций-связывающие соединения, высказано предположение, что кальциевые каналы имеют два селективных фильтра, выполняющих различные функции. Наружный фильтр, образованный, вероятно, несколькими карбоксильными группами, связывает Ca^{2+} , а также другие двухвалентные ионы. Это препятствует прохождению через кальциевый канал одновалентных катионов. Во второй селективный фильтр включена, по-видимому, одна карбоксильная группа, которая определяет селективность канала для двухвалентных катионов [48].

Перемещение ионов по ионным каналам рассматривается в настоящее время как преодоление совокупности энергетических барьеров. Для количественного описания этого процесса используют теорию абсолютных скоростей реакций [64]. Если ионный канал представляет собой пору, то наличие в ней диполей, заряженных групп, сужений определяет энергетический профиль процесса перемещения иона по каналу. Участки, создающие определенные препятствия перемещению иона, представляют собой барьеры, тогда как места связывания ионов в канале характеризуются минимумом свободной энергии и представляют собой энергетические «ямы». При наличии в канале одновременно нескольких одноименно заряженных ионов в расчетах необходимо учитывать кулоновские силы межионного отталкивания. Теория абсолютных скоростей реакций успешно применена для описания энергетического профиля кальциевого канала [45, 46]. В этих работах процесс ионного транспорта в кальциевом канале был описан на основе трехбарьерной модели. В ней предусмотрено два локуса связывания кальция, обладающих различным родством к ионам. В расчетах учтены изменения примембранных концентраций проникающих ионов, обусловленные наличием фиксированных зарядов на наружной поверхности мембраны. Рассчитана константа диссоциации комплексов ионов кальция со связывающими участками канала, а также для комплексов с ионами бария.

Данные, основанные на измерениях максимальных токов, текущих по кальциевым каналам при замещении кальция в наружном растворе другими двухвалентными ионами, дают следующие соотношения избирательности кальциевых каналов нейронов виноградной улитки: $Ba^{2+}:Sr^{2+}:Ca^{2+}:Mg^{2+}=2,8:2,6:1,0:0,2$. Сходная последовательность избирательности характерна и для кальциевых каналов нейронов крысы [5, 49]. Согласно модели, последовательность избирательности обусловлена способностью ионов связываться с карбоксильной группой в селективном фильтре. Все ионы, которые связываются с этой группой слабее, чем ионы кальция, проходят через канал, причем тем лучше, чем слабее связывание. Все же ионы, которые связываются с ней сильнее, чем ионы кальция, блокируют канал. Блок тем эффективнее, чем сильнее связывание.

В связи с высокой способностью ионов бария проходить по кальциевым каналам, их нередко используют в качестве инструмента для изучения свойств кальциевых каналов [13, 54]. В частности, ионы бария были использованы для определения проводимости одиночного кальциевого канала, основанного на анализе флуктуации тока. Для бария проводимость канала составляла 1×10^{-12} С. Ориентировочный

расчет проводимости канала в случае кальциевого тока дал величину $0,5 \times 10^{-12}$ С [9].

Натриевые каналы. Избирательность натриевых каналов соматической мембраны нервных клеток крысы и виноградной улитки мало отличается от таковой гигантского аксона кальмара, перехватов Ранвье миелинизированных нервных волокон лягушки, поперечнополосатых мышечных волокон лягушки [5]. В этой связи есть основание предполагать, что избирательность натриевых каналов соматической мембраны можно объяснить, используя модель Хилле [19], согласно которой поперечное сечение канала в области селективного фильтра представляет собой прямоугольник размером $0,3 \text{ нм} \times 0,5 \text{ нм}$, окруженный атомами кислорода. С проникающими в канал ионами щелочных металлов остается часть гидратной оболочки. Частично гидратированный ион взаимодействует с селективным фильтром таким образом, что образуются водородные связи между связанными с ионом молекулами воды и атомами кислорода. Важную роль в избирательности натриевого канала играет также анионная группа, входящая в структуру селективного фильтра.

Для натриевых каналов соматической мембраны некоторых нейронов моллюсков характерно, что относительно высокие концентрации тетродотоксина не блокируют эти каналы [11]. Тетродотоксин-устойчивые натриевые каналы обнаружены в мембране некоторых нейронов спинальных ганглиев крысы [51]. Важной особенностью этих каналов нейронов крысы является то, что они блокируются специфическими блокаторами кальциевых каналов. Они напоминают по своим свойствам кальциевые каналы, лишённые механизма, препятствующего проникновению в них одновалентных катионов [5].

При сопоставлении кинетических характеристик натриевых и кальциевых каналов соматической мембраны обращает на себя внимание то, что процессы активации и инактивации натриевых каналов протекают значительно быстрее, чем кальциевых [35].

Калиевые каналы. В соматической мембране нервных клеток обнаружено несколько разновидностей калиевых каналов: 1) каналы задержанного калиевого тока; 2) быстрые калиевые каналы; 3) кальций-активируемые калиевые каналы [8, 11]. Соотношения между этими типами калиевых каналов значительно варьируют у разных нейронов.

Так же как и у других возбудимых образований, каналы задержанного калиевого тока обеспечивают реполяризацию мембраны во время потенциала действия. У большинства нейронов моллюсков в задержанном калиевом токе имеется инактивирующаяся фракция [39, 56]. Ей свойственен необычный для других типов каналов феномен кумулятивной инактивации. Он проявляется при повторяющейся активации каналов и играет важную роль в тех перестройках механизмов генерации потенциалов действия, которые наблюдают во время ритмического разряда. Кумулятивная инактивация является результатом достаточно стойких изменений в воротных механизмах инактивирующихся каналов, вызванных смещением мембранного потенциала. Изменения проявляются, в частности, в повышении скорости инактивации при повторной активации этих каналов. Понижение температуры вызывает избирательное подавление инактивирующейся фракции задержанного калиевого тока [57]. На перфузируемых изнутри нейронах моллюсков установлено, что внутриклеточные ионы натрия, взаимодействуя с локусом, расположенным внутри инактивирующегося калиевого канала на расстоянии не менее $0,5$ толщины мембраны, производят его блокирование. Положительные смещения мембранного потенциала до $+60 \text{ мВ}$ и выше устраняют блок. При этом ионы натрия становятся переносчиками тока по калиевым каналам. Неинактивирующиеся калиевые каналы также блокируются внутриклеточными ионами натрия, но в этом случае ионы натрия взаимодействуют с локусом, расположенным более поверхностно у внутреннего устья. Эти данные свиде-

тельствуют об отличии мест двух видов калиевых каналов.

Каналы быстрого калиевого тока инактивированы при мембранном покое. Для устранения инактивации требуется деполяризация мембраны. Заметная активация происходит при таких значениях деполяризации, которые не только облегчают выделение ионов калия, но и ускоряют изучение быстрых калиевых токов. Фракция задержанного калиевого тока подавляется при окислении.

В проведенных в настоящее время исследованиях по химическим свойствам калиевых каналов. Согласно расчетам, сделанным на основе воротных механизмов, в двух стабильных состояниях соответствует большому количеству процессов активации и инактивации, да из одного состояния энергетического барьера, высота которого является постоянной. В разных областях изменения кинетических характеристик быстрого калиевого тока, что и аррениусовских графиков с фазовыми перестройками канала [12].

Оказалось, что быстрые калиевые каналы моллюсков лишены свойств, характерных для калиевых каналов, находящихся в состоянии покоя. Калиевые каналы играют определенную роль в формировании потенциала, которое во время ритмического разряда.

С проникновением ионов калия в каналы, активируемые кальцием, активируется особый тип калиевых каналов, накладывающийся на кальций-активируемые каналы. Гиперполяризация играет определенную роль в формировании потенциалов у нейронов, с которыми связаны импульсы.

Поверхностный потенциал. Для возбудимых мембран характерно наличие поверхностных зарядов, создающих электрическое поле. Оно оказывает влияние на ионные каналы. Поверхностный потенциал определяет ионы в процессе влияния на возбудимость, как наружные, так и внутренние, изменений наружного потенциала. Важно учитывать потенциал [11].

Для количественной оценки поверхностного потенциала Гун — Чапмена. При этом заряды на поверхности мембраны в растворе рассматриваются как постоянная водородная концентрация. Благодаря наличию концентрации ионов мо-

кальциевого тока дал величину

тельность натриевых каналов со- крысы и виноградной улитки го аксона кальмара, перехватов олокон лягушки, поперечнополо-]. В этой связи есть основание триевых каналов соматической и модель Хилле [19], согласно области селективного фильтра мером 0,3 нм × 0,5 нм, окружен- ими в канал ионами щелочных олочки. Частично гидратирован- мембраной таким образом, что связанными с ионом молекула- ю роль в избирательности на- в группа, входящая в структуру

ой мембраны некоторых нейро- ительно высокие концентрации олы [11]. Тетродотоксин-устой- мембране некоторых нейронов ой особенностью этих каналов блокируются специфическими и напоминают по своим свой- ханизма, препятствующего про- олов [5].

рактических натриевых и каль- и обращает на себя внимание ни натриевых каналов проте- ых [35].

еской мембране нервных кле- тей калиевых каналов: 1) ка- быстрые калиевые каналы; олы [8, 11]. Соотношения меж- нительно варьируют у разных

х образований, каналы задер- реполяризацию мембраны во- ва нейронов моллюсков в за- ивирующаяся фракция [39, 56].

итов каналов феномен куму- при повторяющейся активации естройках механизмов генера- юдают во время ритмического яется результатом достаточно их инактивирующихся каналов, енциала. Изменения проявля- инактивации при повторной температуры вызывает изби- ся фракции задержанно- ых изнутри нейронах моллюс- оны натрия, взаимодействуя ивирующегося калиевого ка- мембраны, производят его мембранного потенциала до- том ионы натрия становятся м. Нейнактивирующиеся ка- иклеточными ионами натрия, иствуют с локусом, располо- го устья. Эти данные свиде-

тельствуют об отличии молекулярной организации ионпроводящей час- ти двух видов калиевых каналов.

Каналы быстрого калиевого тока обычно практически полностью инактивированы при мембранном потенциале, близком к потенциалу покоя. Для устранения их инактивации необходима гиперполяризация мембраны. Заметная активация быстрых калиевых каналов происхо- дит при таких значениях мембранного потенциала, при которых дру- гие виды ионных каналов не активируются. Это обстоятельство значи- тельно облегчает выделение быстрого калиевого тока и изолированное изучение быстрых калиевых каналов. Так же как и в случае инактиви- рующейся фракции задержанного тока, быстрый калиевый ток эффек- тивно подавляется при охлаждении [57].

В проведенных в нашем коллективе исследованиях описаны физи- ко-химические свойства воротных механизмов быстрых калиевых ка- налов. Согласно расчетам, подвижные заряды мембраны, связанные с воротными механизмами быстрых калиевых каналов, могут находиться в двух стабильных состояниях; распределение зарядов между ними соответствует бoльцмановскому. Потенциалзависимость констант ско- ростей процесса активации такова, что допускает возможность перехо- да из одного состояния в другое путем преодоления лишь одного энергетического барьера, лимитирующего скорость этой реакции. Вы- сота барьера является линейной функцией мембранного потенциала. В разных областях изменения температуры наблюдается различие тер- модинамических характеристик для процесса активации каналов бы- строго калиевого тока, что проявляется в изменении наклона прямых и аррениусовских графиках. Предполагается, что это явление связано с фазовыми перестройками липидов, окружающих белковую молекулу канала [12].

Оказалось, что быстрые калиевые каналы соматической мембраны нейронов моллюсков лишь в слабой степени подавляются ионами тет- раэтиламмония, находящимися в наружном растворе. Быстрые калие- вые каналы играют определенную роль в тех изменениях мембранно- го потенциала, которые происходят в интервалах между импульсами во время ритмического разряда [8, 11].

С проникновением ионов кальция в сому нервной клетки связана активация особого типа калиевых каналов [34, 59]. Токи, текущие по этим каналам, накладываются на задержанный калиевый ток. Актива- ция кальций-активируемых каналов определяет возникновение постте- танической гиперполяризации у нейронов моллюсков [59], которая играет определенную роль в регуляции интервалов между «пачками» импульсов у нейронов, обладающих пачечной активностью [18].

Поверхностный потенциал соматической мембраны нервной клет- ки. Для возбудимых мембран характерно наличие фиксированных по- верхностных зарядов, создающих поверхностный потенциал мембраны. Он оказывает влияние на «воротные» механизмы электроуправляемых ионных каналов. Поверхностный потенциал определяет характер рас- пределения ионов в примембранном пространстве. Поэтому при изу- чении влияния на возбудимые мембраны изменений рН, изменений ионной силы как наружного раствора, так и внутриклеточного содер- жимого, изменений наружной концентрации двухвалентных ионов осо- бенно важно учитывать возможность изменения поверхностного потен- циала [11].

Для количественной оценки феноменов, связанных с изменениями поверхностного потенциала мембраны, обычно используют теорию Гуи — Чапмена. При этом основываются на следующих допущениях: 1) заряды на поверхности мембраны распределены равномерно; 2) ио- ны в растворе рассматриваются как точечные заряды; 3) диэлектри- ческая постоянная воды в примембранном пространстве имеет свое макроскопическое значение.

Благодаря наличию поверхностного потенциала примембранные концентрации ионов могут существенно отличаться от концентраций в

глубине раствора. Соотношение концентраций ионов в заданной точке примембранного пространства (C_x) и в глубине раствора (C_i) выражаются следующим образом: $\frac{C_x}{C_i} = \exp(-z_i F \varphi_x / RT)$, где x — расстояние рассматриваемой точки от мембраны, z_i — валентность ионов, φ_x — потенциал в точке x , T — абсолютная температура, R — газовая постоянная, F — число Фарадея. Потенциал на поверхности мембраны φ_0 , потенциал в глубине раствора при $x \rightarrow \infty$ $\varphi_\infty = 0$.

Теория Гуи — Чапмена предусматривает только экранирование поверхностных зарядов мембраны ионами, находящимися в растворе. Вместе с тем при рассмотрении взаимодействия ионов с фиксированными зарядами мембраны необходимо предусмотреть и возможность их связывания. Для описания связывания используют изотерму Ленгмюра, предполагая, что между фиксированными зарядами и ионами различной валентности происходит реакция первого порядка. Плотность зарядов при наличии в растворе связывающихся ионов выражается следующим образом:

$$\sigma = \frac{\bar{\sigma}}{1 + K_i C_i \exp\left(-\frac{z_i F \varphi_0}{RT}\right)},$$

$\bar{\sigma}$ — максимальная плотность фиксированных зарядов мембраны при отсутствии связывания; σ — реально существующая плотность зарядов; C_i — концентрация связывающихся ионов в растворе, K — константа связывания.

В проведенных в нашей лаборатории расчетах плотности поверхностных отрицательных зарядов в области локализации быстрых кальциевых каналов соматической мембраны нейронов моллюсков мы допускали, что ионы, находящиеся в растворе, оказывают только экранирующий эффект на поверхностные заряды. Экспериментальные данные удовлетворительно согласовывались с предположением о плотности зарядов, составляющей 0,3 заряд эл./нм². При такой плотности зарядов поверхностный потенциал мембраны в нормальном солевом растворе с 10 ммоль/л Са²⁺ составляет —45 мВ, а примембранная концентрация кальция достигает 312 ммоль/л [11].

В расчетах плотности поверхностных зарядов в области локализации натриевых и кальциевых каналов соматической мембраны нейронов моллюсков было предусмотрено связывание ионов заряженными группами. Для групп, локализованных в области расположения натриевых каналов, использованы следующие величины (л/моль) констант связывания: $K_{Ca} = 90 \pm 10$; $K_{Sr} = 60 \pm 10$; $K_{Ba} = 25 \pm 5$; $K_{Mg} = 16 \pm 5$ при рН=7,7. Для групп, расположенных в области кальциевых каналов: $K_{Ca} = 67 \pm 10$; $K_{Sr} = 20 \pm 5$; $K_{Ba} = 18 \pm 5$ л/моль при рН=7,0. Те же группы связывают ионы водорода с кажущейся $pK = 6,2 \pm 0,2$, что соответствует $K_H = 1,6 \cdot 10^6$. Плотность фиксированных зарядов возле натриевых каналов составляет $0,17 \pm 0,05$ зар.эл./нм², а возле кальциевых каналов $0,23 \pm 0,05$ зар.эл./нм². На основании приведенных выше величин было высказано предположение, что заряженные группировки соматической мембраны принадлежат молекулам фосфатидилсерина [47].

* * *

Суммированные в статье данные показывают, что для соматической мембраны характерны такие разновидности электроуправляемых ионных каналов, благодаря которым смещения мембранного потенциала приводят к необычным для других возбудимых образований изменениям механизмов генерации потенциалов действия. Особо важную роль в возникновении потенциалов действия сомы, как показали наши работы, играют кальциевые токи. Поэтому вопрос об их роли в деятельности сомы нервной клетки представляет особый интерес. Учиты-

вая низкую внутриклеточную приток ионов кальция во внутреннюю часть клетки, повышение ее возбудимости. Это приводит к активации кальциевых каналов, вызывая каналы. Внутриклеточный кальций является одним из регуляторов. По-видимому, именно вход кальция в клетку является фактором, регулирующим уровень клеточной активности. Вероятно, специализация ее активности играет важную роль в решении проблемы требует исследования свойств ионных каналов. О значительном прогрессе в изучении кальциевых каналов с тем целым рядом вопросов, которые остаются мало изученными. На пути молекулярной организации кальциевых каналов выяснение предопределяет направление поиска новых химических средств и др.

P. G.

THE STUDIES OF VOLTAGE-DEPENDENT CALCIUM CHANNELS IN THE SOMA OF THE NEURON

The studies carried out at the Institute of Physiology of the USSR Academy of Sciences, Moscow, are devoted to the quantitative description of ionic currents in the somatic membrane of mollusk neurons. The results of the study of the properties of these currents, the role of calcium channels in the generation of electrically operated ionic currents and pharmacological sensitivity. It is more complicated than the axonal channels is one of the most important functions: an external one which is related to the channel selectivity for divalent cations. It is suggested that the function of the channel selectivity for divalent cations is closely related to the function of calcium channels depends on the protein kinases.

1. Веселовский Н. С., Костюк П. Г. Ионные токи, ответственные за генерацию потенциалов действия в нейронах спинных ганглиев моллюсков. *Физиол. журн.*, 1984, т. 30, № 3, с. 447—453.
2. Герасимов В. Д., Костюк П. Г. Электрические характеристики кальциевых каналов в мембране моллюсков. *Физиол. журн.*, 1984, т. 30, № 3, с. 447—453.
3. Долгая Е. В., Миронов С. Л. Кальциевые каналы в мембране моллюсков. *Физиол. журн.*, 1984, т. 30, № 3, с. 447—453.
4. Дорошенко П. А., Костюк П. Г. Кальциевые каналы в мембране моллюсков. *Физиол. журн.*, 1984, т. 30, № 3, с. 447—453.
5. Костюк П. Г. Основы физиологии электрической возбудимости и физиологии, 1983, 19, № 4, с. 447—453.
6. Костюк П. Г., Дорошенко П. А. Кальциевые каналы в мембране моллюсков. *Физиол. журн.*, 1984, т. 30, № 3, с. 447—453.
7. Костюк П. Г., Дорошенко П. А. Кальциевые каналы в мембране моллюсков. *Физиол. журн.*, 1984, т. 30, № 3, с. 447—453.

натрий ионов в заданной точке в глубине раствора (C_i) выражается формулой $\exp(-z_i F \psi_x / RT)$, где x — расстояние, z_i — валентность ионов, F — постоянная Фарадея, R — газовая постоянная, T — температура, ψ_0 — потенциал на поверхности мембраны, $\psi_\infty = 0$.

Влияет только экранирование положительных зарядов, находящихся в растворе. Действия ионов с фиксированным зарядом и ионами не следует пренебрегать и возможность их использования изотерму Ленгмюра с фиксированными зарядами и ионами первого порядка. Плотности связывающихся ионов выража-

$$\left(\frac{z_i F \psi_0}{RT} \right)^{-1}$$

данных зарядов мембраны при действующей плотности зарядов; K — константа

при расчетах плотности поверхности локализации быстрых каналов нейтронов моллюсков мы догадываемся, что только экранирование. Экспериментальные данные с предположением о плотности 10^4 эл./нм². При такой плотности мембраны в нормальном солевом растворе 45 мВ, а примембранная концентрация [11].

Зарядов в области локализации мембраны нейрона вызывают ионы заряженными в области расположения натриевых каналов (л/моль) констант $K_{Na} = 25 \pm 5$; $K_{Mg} = 16 \pm 5$ при области кальциевых каналов: $K_{Ca} = 10 \pm 5$ при pH=7.0. Те же константы $K_{Ca} = 6,2 \pm 0,2$, что с фиксированными зарядами возле натриевых каналов, а возле кальциевых каналов приведенных выше величин зарядов группировки солей фосфатидилсерина [47].

Показывают, что для соматической мембраны электроуправляемых потенциалов мембранного потенциала возбуждения образований изменений действия. Особо важную роль играют, как показали наши исследования, вопрос об их роли в действии особого интереса. Учтены

внизкую внутриклеточную концентрацию ионизированного кальция, приток ионов кальция во время потенциала действия вызывает значительное ее повышение, особенно в примембранном пространстве внутри клетки. Это приводит к активации кальций-активируемых кальциевых каналов, вызывает токозависимую инактивацию кальциевых каналов. Внутриклеточный транспорт веществ от места их синтеза в соме является одним из известных кальций-регулируемых процессов. По-видимому, именно входящий ток ионов кальция во время активности клетки является фактором, поддерживающим соответствие между уровнем клеточной активности и объемом внутриклеточного транспорта. Вероятно, специальную роль приток кальция в клетку во время ее активности играет в процессе развития нейрона. Однако эта сторона проблемы требует особого изучения. Изложенные выше данные о свойствах ионных каналов соматической мембраны свидетельствуют о значительном прогрессе в этой области клеточной физиологии. Вместе с тем целый ряд вопросов механизма клеточной возбудимости остается мало изученным. Наиболее существенным из них является вопрос о молекулярной организации ионных каналов различных типов. Его выяснение предопределяет и решение актуальных практических задач направленного поиска новых психотропных препаратов, антиаритмических средств и др.

P. G. Kostyuk, I. S. Magura

THE STUDIES OF VOLTAGE-DEPENDENT IONIC CHANNELS OF THE NEURON SOMATIC MEMBRANE

The studies carried out at the A. A. Bogomoletz Institute of Physiology on intracellular perfused isolated neurons of molluscs, amphibia and mammalia gave a detailed quantitative description of ionic currents which form the mechanism of electrical excitability of their somatic membrane. The successful separation and investigation of the individual components of these currents have shown that they are produced by several systems of electrically operated ionic channels differing in selectivity, voltage-dependence, kinetics and pharmacological sensitivity. In this respect the somatic membrane is a structure much more complicated than the axonal one. The presence of a well-developed system of calcium channels is one of the most prominent features of this complexity. It is shown that the calcium channels in the somatic membrane have two ion-selecting filters with different functions: an external one which binds divalent cations and determines the impermeability of the channel to monovalent cations and the channel ion-selecting filter determining the channel selectivity for divalent cations. The quantitative treatment of the ionic transport phenomena in calcium channel was made on the basis of a three-barrier model. It is suggested that the functioning of potential-dependent calcium channels in the somatic membrane is closely related to the intracellular level of cyclic AMP. The normal functioning of calcium channels depends on phosphorylation catalyzed by cyclic AMP-dependent protein kinases.

Список литературы

1. Веселовский Н. С., Костюк П. Г., Крышаль О. А., Пидопличко В. И. Разделение ионных токов, ответственных за генерацию потенциала действия в изолированных нейронах спинальных ганглиев лягушки. — Нейрофизиология, 1977, 9, № 6, с. 638—640.
2. Герасимов В. Д., Костюк П. Г., Майский В. А. Влияние двухвалентных катионов на электрические характеристики мембраны гигантских нейронов. — Биофизика, 1965, 10, № 3, с. 447—453.
3. Долгая Е. В., Миронов С. Л. Исследование свойств поверхности нейронов спинальных ганглиев крыс методом микроэлектрофореза. — Нейрофизиология, 1984, 16, № 2, с. 176—182.
4. Дорошенко П. А., Костюк П. Г., Мартынюк А. Е. Инактивация кальциевых токов в соматической мембране нейронов моллюсков. — Там же, 1982, 14, № 5, с. 525—531.
5. Костюк П. Г. Основные принципы организации ионных каналов, определяющих электрическую возбудимость нейрональной мембраны. — Журн. эволюц. биохимии и физиологии, 1983, 19, № 4, с. 333—339.
6. Костюк П. Г., Дорошенко П. А., Мартынюк А. Е. Исследование метаболической зависимости активности кальциевых каналов соматической мембраны нервной клетки. — Биол. мембраны, 1984, 1, № 1, с. 18—26.
7. Костюк П. Г., Дорошенко П. А., Курский М. Д. и др. Внутриклеточное введение каль-

- талитической субъединицы цАМФ-зависимой протениназы восстанавливает кальциевый ток в мембране диализируемых нервных клеток виноградной улитки. — Докл. АН СССР, 1983, 271, № 3, с. 756—758.
8. Костюк П. Г., Кришталь О. А. Механизмы электрической возбудимости нервной клетки. — М.: Наука, 1981. — 204 с.
9. Костюк П. Г., Кришталь О. А., Пидопличко В. И. Оценка проводимости одиночного кальциевого по флуктуациям тока с использованием эффекта ЭГТА. — Докл. АН СССР, 1978, 238, № 2, с. 478—481.
10. Либерман Е. А., Милина С. В., Голоубцов К. В. Изучение метаболического синапса. I. Эффект внутриклеточной микроинъекции 3',5'-АМФ. — Биофизика, 1975, 20, № 3, с. 451—456.
11. Магура И. С. Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны. — Киев: Наук. думка, 1981. — 206 с.
12. Магура И. С., Преварская Н. Б., Дуб В. А. Термодинамические характеристики воротных механизмов быстрых кальциевых каналов соматической мембраны нейронов улитки. — Нейрофизиология, 1983, 15, № 6, с. 563—570.
13. Adams D. J., Gage P. W. Divalent ion current and the delayed potassium conductance in an *Aplysia* neurone. — J. Physiol., 1980, 304, p. 297—313.
14. Brown A. M., Morimoto K., Tsuda Y., Wilson D. L. Calcium current-dependent and voltage-dependent inactivation of calcium channels in *Helix aspersa*. — Ibid., 1981, 320, p. 193—218.
15. Doroshenko P. A., Kostyuk P. G., Marinyuk A. E. Intracellular metabolism of adenosine 3',5'-cyclic monophosphate and calcium inward current in perfused neurones of *Helix pomatia*. — Neuroscience, 1982, 9, N 9, p. 2125—2134.
16. Fedulova S. A., Kostyuk P. G., Veselovsky N. S. Calcium channels in the somatic membrane of the rat dorsal root ganglion neurons, effect of cAMP. — Brain Res., 1981, 214, N 2, p. 210—214.
17. Geduldig D., Junge D. Sodium and calcium components of action potential in the *Aplysia* giant neurone. — J. Physiol., 1968, 199, N 2, p. 347—365.
18. Gorman A. L. F., Thomas M. V. Changes in the intracellular concentration of free calcium ions in a pacemaker neurone, measured with the metallochromic indicator dye arsenazo III. — Ibid., 1978, 275, p. 357—376.
19. Hille B. The permeability of the sodium channels to organic cations in myelinated nerve. — J. Gen. Physiol., 1971, 58, N 6, p. 599—619.
20. Iwasaki S., Satow I. Sodium- and calcium-dependent spike potentials in the secretory neuron soma of the X-organ of the crayfish. — Ibid., 57, N 2, p. 216—238.
21. Kleinhaus A. L., Prichard J. W. Calcium-dependent action potentials produced in leech *Retzius* cells by tetraethylammonium chloride. — J. Physiol., 1975, 246, N 2, p. 351—361.
22. Koketsu K., Nishi S. Calcium and action potentials of bullfrog sympathetic ganglion cells. — J. Gen. Physiol., 1969, 53, N 5, p. 608—623.
23. Kononenko N. I. Modulation of the endogenous electrical activity of the bursting neuron in the snail *Helix pomatia*. — I. The generator of the slow rhythms. — Neuroscience, 1979, 4, N 12, p. 2037—2045.
24. Kononenko N. I. Modulation of the endogenous electrical activity of the bursting neuron in the snail *Helix pomatia*. — II. The membrane characteristics related to modulation of the endogenous activity of the neuron. — Ibid., p. 2047—2054.
25. Kononenko N. I. Modulation of the endogenous electrical activity of the bursting neuron in the snail *Helix pomatia*. — III. A factor modulating the endogenous electrical activity of the bursting neuron. — Ibid., p. 2055—2059.
26. Kononenko N. I., Kostyuk P. G. Further studies of the potential-dependence of the sodium-induced membrane current in snail neurones. — J. Physiol., 1976, 256, N 3, p. 601—615.
27. Kononenko N. I., Kostyuk P. G., Shcherbatko A. D. The effect of intracellular cAMP injection on stationary membrane conductance and voltage- and time-dependent ionic currents in identified snail neurones. — Brain Res., 1983, 268, N 2, p. 321—338.
28. Kostyuk P. G. Electrical events during active transport of ions through biological membranes. — In: Topics in bioelectrochemistry and bioenergetics / Ed. by G. Milazzo. Chichester; New York etc.: John Wiley & Sons, 1978, vol. 2, p. 129—149.
29. Kostyuk P. G. Calcium ionic channels in electrically excitable membrane. — Neuroscience, 1980, 5, N 6, p. 945—953.
30. Kostyuk P. G. Calcium channels in the neuronal membrane. — Biochim. et biophys. acta, 1981, 650, N 1, p. 128—150.
31. Kostyuk P. G. Penetration of calcium through the membrane of excitable cells. — In: Membrane transport of calcium / Ed. by E. Carafoli. London etc.: Acad. press, 1982, p. 1—40.
32. Kostyuk P. G. Intracellular perfusion. — Ann. Rev. Neurosci., 1982, 5, p. 107—120.
33. Kostyuk P. G. The main principles of the organization of ionic channels which determine the excitability of the neuronal membrane. — Acta morphologica hungarica, 1983, 31, N 1, p. 63—72.
34. Kostyuk P. G., Doroshenko P. A., Tsyndrenko A. Ya. Calcium-dependent potassium conductance studied on internally dialysed nerve cells. — Neuroscience, 1980, 5, N 12, p. 2187—2192.
35. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. Separation of sodium and calcium currents in the somatic membrane of mollusc neurones. — J. Physiol., 1977, 270, N 3, p. 545—568.
36. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. Effects of calcium and calcium-chelating agents on the inward and outward currents. — Ibid., 1978, 271, N 3, p. 589—604.
37. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. I. Identification of calcium currents in mollusc neurones. — Ibid., 1978, 271, N 3, p. 605—614.
38. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. II. The effect of external calcium on the inactivation of calcium currents. — Ibid., p. 95—104.
39. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. I. Inactivation kinetics of calcium currents in mollusc neurones. — Ibid., p. 263—272.
40. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. II. Effect of TEA on the inactivation of calcium currents. — Ibid., p. 373—392.
41. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. during the active transport of calcium. — Ibid., p. 421—430.
42. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. Nature, 1975, 257, N 5528, p. 1—10.
43. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. charge movements in the membrane of mollusc neurones. — Ibid., 1975, 257, N 5528, p. 1—10.
44. Kostyuk P. G., Krishtal O. A. the neuroblastoma cell membrane. — Ibid., 1975, 257, N 5528, p. 1—10.
45. Kostyuk P. G., Mironov S. I. ronal membrane. — Gen. Physiol. Biophys., 1978, 7, p. 1—10.
46. Kostyuk P. G., Mironov S. I. in the membrane of mollusc neurones. — Ibid., 1978, 7, p. 1—10.
47. Kostyuk P. G., Mironov S. I. on the outer side of mollusc neurones. — Ibid., 1978, 7, p. 1—10.
48. Kostyuk P. G., Mironov S. I. channel of the somatic membrane. — Ibid., 1978, 7, p. 1—10.
49. Kostyuk P. G., Veselovsky N. S. rane of rat dorsal root ganglion neurons. — Ibid., 1981, 320, p. 193—218.
50. Kostyuk P. G., Veselovsky N. S. in the somatic membrane of mollusc neurones. — Ibid., p. 2439—2447.
51. Kostyuk P. G., Veselovsky N. S. membrane of rat dorsal root ganglion neurons. — Ibid., p. 2439—2447.
52. Krishtal O. A., Magura I. S. neurones. — Comp. Biochem. Physiol., 1983, 71, N 1/2, p. 11—19.
53. Latorre R., Miller C. Conductance of calcium currents in mollusc neurones. — Biol., 1983, 71, N 1/2, p. 11—19.
54. Magura I. S. Long-lasting voltage-clamp conditions. — Ibid., p. 2047—2054.
55. Magura I. S., Kiss I., Krishtal O. A. soma membrane of *Lymnaea stagnalis*. — Ibid., N 3, p. 221—228.
56. Magura I. S., Krishtal O. A. duration voltage clamp in snail neurones. — Ibid., N 6, p. 715—722.
57. Magura I. S., Valeyev A. E. ward currents in the somatic membrane of mollusc neurones. — Exp. Biol., 1975, 62, N 2, p. 1—10.
58. Magura I. S., Zamekhouly S. Ibid., 1973, 59, N 3, p. 767—774.
59. Meech R. W. Calcium-dependent currents in mollusc neurones. — Biophys. Bioeng., 1978, 7, p. 1—10.
60. Oomura Y., Ozaki S., Maenaka K. Conditions. — Nature, 1978, 271, N 3, p. 589—604.
61. Pitman R. M. Intracellular production of calcium-dependent currents. — J. Physiol., 1979, 291, N 2, p. 1—10.
62. Schwartzkroin P. A., Slawson J. R. Brain Res., 1977, 135, N 1, p. 1—10.
63. Wald F. Ionic differences between mollusc neurones. — J. Physiol., 1972, 261, N 2, p. 1—10.
64. Woodbury J. W. Eyring rate channels in excitable membranes. — New York: Wiley, 1972.
65. Yoshida S., Matsuda Y., Kameyama T. components of action potentials in mollusc neurones. — Neurophysiol., 1978, 41, N 4, p. 1—10.

ой протеникиназы восстанавливает кальциевых клеток виноградной улитки. — Докл. АН УССР, 1975, 20, № 3, с. 354—356.

В. И. Оценка проводимости одиночного кальциевого канала с помощью ЭГТА. — Докл. АН УССР, 1975, 20, № 3, с. 357—359.

В. И. Изучение метаболического синапса. 3',5'-АМФ. — Биофизика, 1975, 20, № 3, с. 360—362.

В. И. Возбудимость нейрональной мембраны. — Докл. АН УССР, 1975, 20, № 3, с. 363—365.

В. И. Термодинамические характеристики потенциалов соматической мембраны нейронов. — Докл. АН УССР, 1975, 20, № 3, с. 366—368.

В. И. The effect of external calcium concentration on the calcium inward current. — Ibid., p. 95—104.

В. И. Outward currents in isolated snail neurones. I. Inactivation kinetics. — Comp. Biochem. Physiol., 1975, 51C, N 3, p. 259—263.

В. И. Outward currents in isolated snail neurones. II. Effect of TEA. — Ibid., p. 265—268.

В. И., Кристал О. А., Доросенко П. А. Potential-dependent membrane current during the active transport of ions in snail neurones. — J. Physiol., 1972, 226, N 2, p. 373—392.

В. И., Кристал О. А., Пидопличко В. И. Intracellular dialysis of nerve cells. — Nature, 1975, 257, N 5528, p. 691—693.

В. И., Кристал О. А., Пидопличко В. И. Calcium inward current and related charge movements in the membrane of snail neurones. — J. Physiol., 1981, 310, p. 403—421.

В. И., Кристал О. А., Пидопличко В. И., Веселовский Н. С. Ionic currents in the neuroblastoma cell membrane. — Neuroscience, 1978, 3, N 3, p. 327—332.

В. И., Митронов С. Л. Theoretical description of calcium channels in the neuronal membrane. — Gen. Physiol. Biophys., 1982, 1, N 5, p. 289—305.

В. И., Митронов С. Л., Доросенко П. А. Energy profile of the calcium channel in the membrane of mollusc neurones. — J. Membrane Biol., 1982, 70, N 2, p. 181—189.

В. И., Митронов С. Л., Доросенко П. А., Пономарев В. Н. Surface charges on the outer side of mollusc neuron membrane. — Ibid., N 3, p. 171—179.

В. И., Митронов С. Л., Шуба Я. М. Two ion-selecting filters in the calcium channel of the somatic membrane of mollusc neurones. — Ibid., 1983, 76, N 1, p. 83—93.

В. И., Веселовский Н. С., Федюлова С. А. Ionic currents in the somatic membrane of rat dorsal root ganglion neurones. — II. Calcium currents. — Neuroscience, 1981, 6, N 12, p. 2431—2437.

В. И., Веселовский Н. С., Федюлова С. А., Тsyndrenko А. Y. Ionic currents in the somatic membrane of rat dorsal root ganglion neurones. — III. Potassium currents. — Ibid., p. 2439—2444.

В. И., Веселовский Н. С., Тsyndrenko А. Y. Ionic currents in the somatic membrane of rat dorsal root ganglion neurones. — I. Sodium currents. — Ibid., p. 2423—2430.

В. И., Кристал О. А., Магура И. С. Calcium ions as inward current carriers in mollusc neurones. — Comp. Biochem. Physiol., 1970, 35, N 6, p. 857—866.

В. И., Миллер С. Кондукция и селективность в калиевых каналах. — J. Membrane Biol., 1983, 71, N 1/2, p. 11—30.

В. И., Магура И. С. Long-lasting inward current in snail neurones in barium solutions in voltage-clamp conditions. — Ibid., 1977, 35, N 2, p. 239—256.

В. И., Кисс И., Кристал О. А. Current-voltage relations of the giant neurone soma membrane of *Lymnaea stagnalis*. — Acta physiol. Acad. sci. hung., 1971, 40, N 3, p. 221—228.

В. И., Кристал О. А., Валецкий А. Е. Behaviour of delayed current under long duration voltage clamp in snail neurones. — Comp. Biochem. and Physiol. A, 1971, 40, N 6, p. 715—722.

В. И., Магура И. С., Валецкий А. Е., Замеховский И. З. The effect of temperature on the outward currents in the soma of molluscan neurones in voltage-clamp conditions. — J. Exp. Biol., 1975, 62, N 2, p. 265—275.

В. И., Магура И. С., Замеховский И. З. Repetitive firing in molluscan giant neurones. — Ibid., 1973, 59, N 3, p. 767—780.

В. И., Меч Р. W. Calcium-dependent potassium activation in nervous tissues. — Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 1978, 7, p. 1—18.

В. И., Оомура Я., Озак С., Маэно Т. Electrical activity of a giant nerve cell under abnormal conditions. — Nature, 1961, 191, N 4751, p. 1265—1267.

В. И., Питман Р. М. Intracellular citrate or externally applied tetraethylammonium ions produce calcium-dependent action potentials in an insect motoneurone cell body. — J. Physiol., 1979, 291, N 2, p. 327—337.

В. И., Шварцкройн П. А., Славский М. Probable calcium spikes in hippocampal neurones. — Brain Res., 1977, 135, N 1, p. 157—161.

В. И., Вальд Ф. Ionic differences between somatic and axonal action potentials in snail giant neurones. — J. Physiol., 1972, 220, N 2, p. 267—281.

В. И., Вудбери Дж. W. Eyring rate theory model of the current-voltage relationships of ion channels in excitable membranes. — In: Chemical dynamics: Papers in honor of Henry Eyring. New York: Wiley, 1971, p. 601—617.

В. И., Йошида С., Матсуда Я., Сэмецума А. Tetrodotoxin-resistant sodium and calcium components of action potentials in dorsal root ganglion cells of the adult mouse. — J. Neurophysiol., 1978, 41, N 4, p. 1096—1106.

- the inward and outward currents in the membrane of mollusc neurones. — Ibid., p. 569—580.
37. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Doroshenko P. A. Calcium currents in snail neurones. I. Identification of calcium currents. — Pflügers Arch., 1974, 348, N 1, p. 83—93.
38. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Doroshenko P. A. Calcium current in snail neurones. II. The effect of external calcium concentration on the calcium inward current. — Ibid., p. 95—104.
39. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Doroshenko P. A. Outward currents in isolated snail neurones. I. Inactivation kinetics. — Comp. Biochem. Physiol., 1975, 51C, N 3, p. 259—263.
40. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Doroshenko P. A. Outward currents in isolated snail neurones. II. Effect of TEA. — Ibid., p. 265—268.
41. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I. Potential-dependent membrane current during the active transport of ions in snail neurones. — J. Physiol., 1972, 226, N 2, p. 373—392.
42. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I. Intracellular dialysis of nerve cells. — Nature, 1975, 257, N 5528, p. 691—693.
43. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I. Calcium inward current and related charge movements in the membrane of snail neurones. — J. Physiol., 1981, 310, p. 403—421.
44. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Pidoplichko V. I., Veselovsky N. S. Ionic currents in the neuroblastoma cell membrane. — Neuroscience, 1978, 3, N 3, p. 327—332.
45. Kostyuk P. G., Mironov S. L. Theoretical description of calcium channels in the neuronal membrane. — Gen. Physiol. Biophys., 1982, 1, N 5, p. 289—305.
46. Kostyuk P. G., Mironov S. L., Doroshenko P. A. Energy profile of the calcium channel in the membrane of mollusc neurones. — J. Membrane Biol., 1982, 70, N 2, p. 181—189.
47. Kostyuk P. G., Mironov S. L., Doroshenko P. A., Ponomarev V. N. Surface charges on the outer side of mollusc neuron membrane. — Ibid., N 3, p. 171—179.
48. Kostyuk P. G., Mironov S. L., Shuba Ya. M. Two ion-selecting filters in the calcium channel of the somatic membrane of mollusc neurones. — Ibid., 1983, 76, N 1, p. 83—93.
49. Kostyuk P. G., Veselovsky N. S., Fedulova S. A. Ionic currents in the somatic membrane of rat dorsal root ganglion neurones. — II. Calcium currents. — Neuroscience, 1981, 6, N 12, p. 2431—2437.
50. Kostyuk P. G., Veselovsky N. S., Fedulova S. A., Tsyndrenko A. Y. Ionic currents in the somatic membrane of rat dorsal root ganglion neurones. — III. Potassium currents. — Ibid., p. 2439—2444.
51. Kostyuk P. G., Veselovsky N. S., Tsyndrenko A. Y. Ionic currents in the somatic membrane of rat dorsal root ganglion neurones. — I. Sodium currents. — Ibid., p. 2423—2430.
52. Krishtal O. A., Magura I. S. Calcium ions as inward current carriers in mollusc neurones. — Comp. Biochem. Physiol., 1970, 35, N 6, p. 857—866.
53. Latorre R., Miller C. Conduction and selectivity in potassium channels. — J. Membrane Biol., 1983, 71, N 1/2, p. 11—30.
54. Magura I. S. Long-lasting inward current in snail neurones in barium solutions in voltage-clamp conditions. — Ibid., 1977, 35, N 2, p. 239—256.
55. Magura I. S., Kiss I., Krishtal O. A. Current-voltage relations of the giant neurone soma membrane of *Lymnaea stagnalis*. — Acta physiol. Acad. sci. hung., 1971, 40, N 3, p. 221—228.
56. Magura I. S., Krishtal O. A., Valeev A. E. Behaviour of delayed current under long duration voltage clamp in snail neurones. — Comp. Biochem. and Physiol. A, 1971, 40, N 6, p. 715—722.
57. Magura I. S., Valeev A. E., Zamekhovskiy I. Z. The effect of temperature on the outward currents in the soma of molluscan neurones in voltage-clamp conditions. — J. Exp. Biol., 1975, 62, N 2, p. 265—275.
58. Magura I. S., Zamekhovskiy I. Z. Repetitive firing in molluscan giant neurones. — Ibid., 1973, 59, N 3, p. 767—780.
59. Meech R. W. Calcium-dependent potassium activation in nervous tissues. — Ann. Rev. Biophys. Bioeng., 1978, 7, p. 1—18.
60. Oomura Y., Ozaki S., Maeno T. Electrical activity of a giant nerve cell under abnormal conditions. — Nature, 1961, 191, N 4751, p. 1265—1267.
61. Pitman R. M. Intracellular citrate or externally applied tetraethylammonium ions produce calcium-dependent action potentials in an insect motoneurone cell body. — J. Physiol., 1979, 291, N 2, p. 327—337.
62. Schwartzkroin P. A., Slawsky M. Probable calcium spikes in hippocampal neurones. — Brain Res., 1977, 135, N 1, p. 157—161.
63. Wald F. Ionic differences between somatic and axonal action potentials in snail giant neurones. — J. Physiol., 1972, 220, N 2, p. 267—281.
64. Woodbury J. W. Eyring rate theory model of the current-voltage relationships of ion channels in excitable membranes. — In: Chemical dynamics: Papers in honor of Henry Eyring. New York: Wiley, 1971, p. 601—617.
65. Yoshida S., Matsuda Y., Samejima A. Tetrodotoxin-resistant sodium and calcium components of action potentials in dorsal root ganglion cells of the adult mouse. — J. Neurophysiol., 1978, 41, N 4, p. 1096—1106.