

18. Nishi S., Koketsu K. Electrical properties and activities of single sympathetic neurons in frog. — J. Cell. Comp. Physiol., 1960, 55, N 1, p. 15—30.
19. Nishi S., Soeda H., Koketsu K. Studies on sympathetic B and C neurons and patterns of preganglionic innervation. — Ibid., 1965, 66, N 1, p. 19—32.
20. Purves D., Hume R. I. The relation of postsynaptic geometry to the number of pre-synaptic axons that innervate autonomic ganglion cells. — J. Neuroscience, 1981, 1, N 3, p. 441—452.
21. Skok V. I. Fast synaptic transmission in autonomic ganglia. — In: Autonomic ganglia, New York etc., 1983, p. 265—280.
22. Skok V. I., Ivanov A. Y. What is the ongoing activity of sympathetic neurons. — J. Auton. Nervous System, 1983, 7, N 3, p. 263—270.

Ин-т физиологии им. А. А. Богомольца
АН УССР, Киев

Поступила 26.12.83

УДК 577.352.5:612.73

Шуба М. Ф., Бурый В. А.

МЕМБРАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВОЗБУЖДЕНИЯ ГЛАДКОМЫШЕЧНЫХ КЛЕТОК

Уже в первые годы после опубликования Ходжкиным и Хаксли натрий-калиевой теории возбуждения было обнаружено, что гладкие мышцы (ГМ) способны генерировать потенциалы действия (ПД) и в безнатриевой среде [16, 17, 27, 28, 43, 44]. Позже было показано, что амплитуда этих ПД зависит от наружной концентрации Ca^{++} , и они угнетаются блокаторами кальциевой проводимости [27, 40, 51]. Этими экспериментами был поставлен вопрос о возможном участии Ca^{++} в возбуждении ГМ.

Существенный прогресс в расшифровке ионных механизмов ПД ГМ связан с внедрением метода фиксации напряжения для исследования трансмембранных токов в гладкомышечных клетках (ГМК) [23, 46, 47, 54]. Несмотря на технические трудности и некоторые ограничения этого метода [1, 26] он позволяет проанализировать зависимость ионных проводимостей мембраны от потенциала, исследовать их кинетические характеристики и глубже понять механизмы, лежащие в основе генерации ПД в ГМК.

Ионная природа потенциалов действия в гладкомышечных клетках. Объектом наших исследований служили гладкие мышцы *taenia coli* мочеточника, фундальной части желудка морской свинки и легочной артерии кролика. Выбор этих объектов был не случайным и связан с тем, что в нормальных условиях они различаются возбудимостью и характером электрической активности. Мышечные клетки *taenia coli* обладают спонтанной активностью, а генерируемые ими ПД имеют форму простых пиковых потенциалов. В ГМК мочеточника спонтанная активность отсутствует, а при раздражении их электрическим током генерируются ПД типа плато с осцилляциями на нем. Отличительной особенностью мышечных клеток фундуса является то, что электрическим раздражением в них можно вызвать только градуальные ПД, а ГМК легочной артерии в нормальных условиях вообще не способны генерировать ПД. Эти вариации электрической активности разных типов ГМ отражают определенные различия в свойствах ионных проводимостей их мембраны, ответственных за генерацию ПД. На рис. 1 приведены осциллограммы токов, зарегистрированные в ГМК *taenia coli* при деполяризующих сдвигах трансмембранного потенциала от потенциала покоя до различных уровней. Трансмембранные токи при деполяризации мембраны имеют сложный временной ход. Начальный ток, который развивается вслед за емкостной компонентой, имеет входящее направление. Через короткое время (около 10 мс) этот ток

сменяется быстро нарастающим выходящим током, который, достигнув максимума, начинает инактивироваться. На этот процесс накладывается активация более медленной компоненты выходящего тока, которая не проявляет тенденции к инактивации в течение 150 мс, пока длится деполяризация мембраны.

Не менее сложная картина трансмембранных токов наблюдается и в мышечных клетках мочеточника (рис. 2, А, 5, А и 10, А). Временные и амплитудные соотношения между быстрой входящей и быстрой

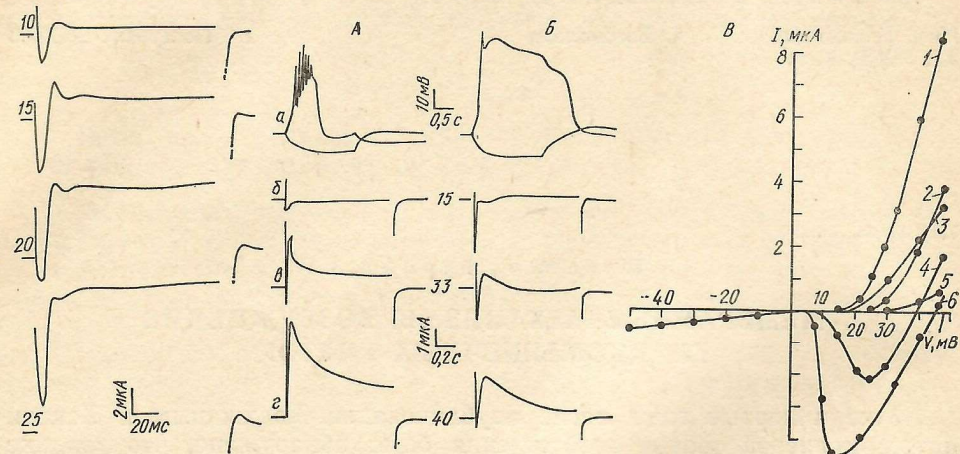


Рис. 1. Трансмембранные токи в ГМК *taenia coli* морской свинки при фиксированных деполяризующих сдвигах трансмембранного потенциала.

Цифры возле осциллограмм токов означают величину деполяризующих сдвигов в милливольт. Поддерживаемый потенциал равен потенциалу покоя.

Рис. 2. Влияние ТЭА (5 ммоль/л) на ПД и ионные токи ГМК мочеточника морской свинки.

А — контрольные ответы в нормальном растворе. Б — в присутствии 5 ммоль/л ТЭА; а — ответы мембраны на гипер- и деполяризующие импульсы тока (наложены); б, в, г — ионные токи, вызванные деполяризующими сдвигами трансмембранного потенциала. Цифры возле осциллограмм токов обозначают величину деполяризующих сдвигов в милливольт. В — вольт-амперные характеристики в нормальном растворе (кривые 1, 2, 4) и в присутствии 5 ммоль/л ТЭА (кривые 3, 5, 6) для быстрого выходящего (1, 3), установившегося (2, 5) и входящего (4, 6) токов.

выходящей компонентами трансмембранного тока в этих клетках примерно такие же, как и в *taenia coli*. Однако наряду с быстроинактивирующейся компонентой выходящего тока наблюдается компонента с более медленной кинетикой инактивации (рис. 2, А), а неинактивирующаяся компонента выходящего тока в ГМК мочеточника нарастает медленнее. Кроме того, активация обеих компонент выходящего тока в этих клетках происходит при более положительных трансмембранных потенциалах, чем активация входящего тока.

Отличительной особенностью мышечных клеток фундальной части желудка [31] является то, что активация быстрого выходящего тока происходит с меньшей задержкой по отношению ко входящему (рис. 3), а пороги активации входящего и выходящего токов, как и в *taenia coli*, совпадают. На этом же рисунке показано влияние бескальциевого раствора на трансмембранный ток, подтверждающее кальциевую природу его входящей компоненты. В мышечных клетках легочной артерии входящая компонента трансмембранного тока вообще не проявляется [3]. При деполяризующих сдвигах трансмембранного потенциала наблюдаются только быстрая и медленная компоненты выходящего тока.

Сравнивая трансмембранные токи в различных типах гладких мышц, можно заметить, что в менее возбудимых ГМК наблюдается больший вклад в суммарный трансмембранный ток выходящего тока. Однако представления о реальной величине этого вклада, а также о временных и амплитудных соотношениях между различными компонентами трансмембранного тока и их ионной природе можно получить

только в экспериментах с разделением ионных проводимостей мембраны. В этом отношении большой интерес представляет применение ионов тетраэтиламмония (ТЭА), которые оказывают избирательное блокирующее влияние на каналы калиевой проводимости мембраны многих возбудимых тканей. Результаты опытов с ТЭА показаны на рис. 2 на примере ГМК мочеточника. При действии ТЭА амплитуда и длительность ПД значительно возрастают, а осцилляции на плато исчезают. В этих условиях быстрая и медленная компоненты выходящего

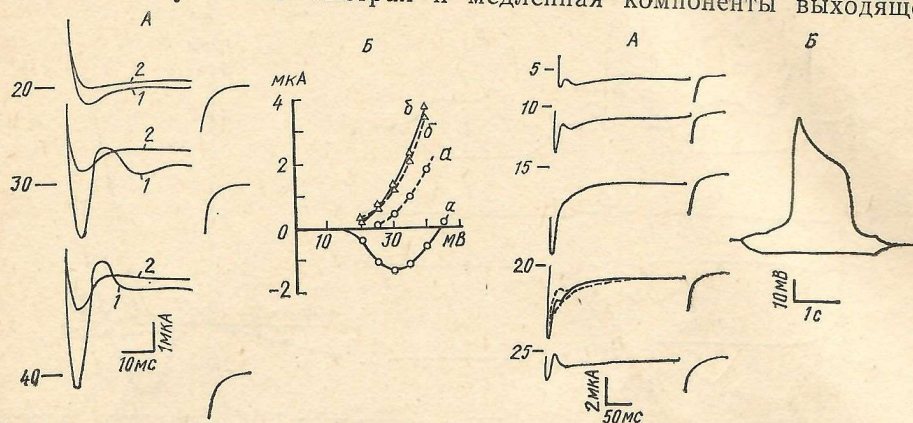


Рис. 3. Действие бескальциевого раствора на трансмембранные токи (А) и вольт-амперные характеристики (Б) ГМК фундальной части желудка для входящего (а) и быстрого выходящего (б) токов.

1 и 2 — соответственно трансмембранные токи в нормальном и бескальциевом растворах. Сплошная линия — контроль, штриховая — $[Ca^{++}]_0 = 0$.

Рис. 4. Трансмембранные токи (А) и ПД (Б) в ГМК фундальной части желудка при замене внеклеточных ионов кальция ионами бария.

Цифры возле осциллограмм токов обозначают величину фиксированных деполяризующих сдвигов трансмембранного потенциала в милливольтках. Пунктиром показаны изменения трансмембранных токов при кондиционирующей гиперполяризации (верхняя кривая) и деполяризации (нижняя кривая) на 5 мВ.

тока заметно уменьшаются. В то же время амплитуда и длительность входящего тока увеличиваются. Учитывая, что ТЭА избирательно угнетает калиевую проводимость мембраны, этот опыт свидетельствует о том, что трансмембранный ток, регистрируемый в нормальном растворе, является результатом наложения входящего тока с выходящим, который переносится ионами калия и активируется практически одновременно с входящим. Такая же ситуация имеет место и в других типах гладких мышц. ГМК легочной артерии, несмотря на их невозбудимость в нормальном растворе, при действии ТЭА приобретают способность генерировать не только вызванные раздражением, но и спонтанные ПД [8]. В условиях фиксации напряжения быстрый и медленный входящие токи частично угнетаются, и в суммарном трансмембранном токе появляется входящая компонента.

Наложение входящего и выходящего токов в ГМК можно показать не только с помощью ТЭА, но и если заменить в наружном растворе Ca^{++} , который предполагается основным переносчиком входящего тока в ГМК, Ba^{++} , для которых Са каналы более проницаемы, чем для Ca^{++} во многих возбудимых тканях [7, 38, 42]. В связи с этим сохранение возбудимости мембраны в бариевых растворах часто рассматривается как один из аргументов кальциевой природы ПД в нормальных условиях. Влияние замены внеклеточного кальция на барий показано на рис. 4 на примере ГМК фундальной части желудка. Трансмембранные токи в этих условиях изменяются в сторону значительного увеличения входящего тока. Следует отметить, что Ba^{++} , помимо увеличения входящего тока, может в какой-то мере подавлять калиевую проводимость мембраны [55], поэтому наблюдаемый эффект является результатом влияния Ba^{++} как на кальциевую, так и на калиевую проводимости. Однако на нисходящей фазе входящего тока

(рис. 4, А) наблюдается холмик, амплитуда которого увеличивается при кондиционирующей гиперполяризации мембраны и уменьшается при кондиционирующей деполяризации. Как будет показано ниже, это свидетельствует об участии в его формировании каналов быстрого калиевого тока. Все же вклад калиевой проводимости в суммарный трансмембранный ток в бариевом растворе существенно меньший, чем в нормальном. В результате этого, наряду с быстрой компонентой, проявляется также медленно инактивирующаяся и стационарная ком-

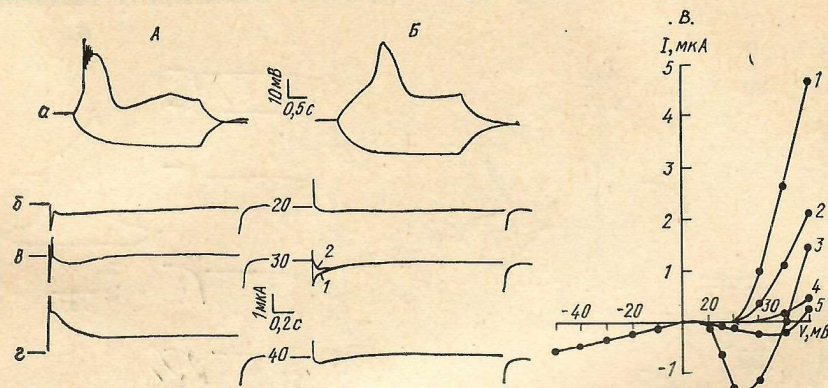


Рис. 5. Действие Mn^{++} (2 ммоль/л) на ПД и ионные токи ГМК мочеточника морской свинки.

А — контрольные ответы в нормальном растворе; Б — в присутствии 2 ммоль/л Mn^{++} . а — ответы мембраны на гипер- и деполяризующие импульсы тока (наложены); б, в, г — ионные токи, вызванные деполяризующими сдвигами трансмембранного потенциала. Цифры возле осциллограмм токов обозначают величину деполяризующих сдвигов в милливольт. 1 и 2 — осциллограммы токов, зарегистрированные соответственно через 20 с и 5 мин после начала действия Mn^{++} . В — вольт-амперные характеристики в нормальном растворе (1, 2, 3) и в присутствии 2 ммоль/л Mn^{++} (4, 5) для быстрого выходящего (1), установившегося (2, 4) и входящего (3, 5) токов.

поненты входящего тока. Эти изменения ионных проводимостей мембраны отражаются на характере электрической активности ГМК фундальной части желудка. Градуальные ПД превращаются в бариевом растворе в высокоамплитудные ПД типа плато (рис. 4, Б).

Эксперименты с ТЭА и Ba^{++} свидетельствуют о том, что возбудимость и характер электрической активности ГМК различных органов в значительной степени определяется вкладом калиевой проводимости в суммарную ионную проводимость мембраны. Однако из приведенных примеров видно, что калиевая проводимость в присутствии ТЭА полностью не подавляется. Даже значительное повышение концентрации этих ионов в наружной среде не позволяет исследовать чистый входящий ток, не осложненный калиевым выходящим током. С другой стороны, применение известных блокаторов кальциевых каналов (Mn^{++} , Cd^{++} , верапамил и др.) также не позволяет получить чистый выходящий калиевый ток, поскольку эти блокаторы оказывают заметное влияние и на калиевую проводимость мембраны ГМК. Это в значительной степени усложняет интерпретацию результатов таких экспериментов. Например, в ГМК мочеточника Mn^{++} в концентрации 5 ммоль/л полностью подавляет генерацию ПД. Это может рассматриваться как доказательство кальциевой природы ПД в этих клетках. Однако при меньших концентрациях Mn^{++} (2 ммоль/л) возбудимость мышечных клеток сохраняется, исчезают только осцилляции на плато ПД (рис. 5, Б). При этом медленный выходящий ток заметно уменьшается, а быстрые компоненты как выходящего, так и входящего токов подавляются полностью [29]. Можно думать, что сохраняющийся в этих условиях медленный входящий ток переносится либо ионами натрия, либо ионами кальция (из-за меньшей чувствительности медленных Са каналов к блокирующему действию Mn^{++}), либо ионами марганца.

Учитывая, что в безнатриевом растворе ГМК мочеточника генерируют простые пиковые потенциалы без плато, первоначально был сделан вывод, что ионы кальция принимают участие только в генерации

пиковой компоненты ПД, а плато обусловлено повышением натриевой проводимости мембраны [6, 11, 49]. Дальнейшие исследования показали, что если к безнатриевому раствору добавить ТЭА, то плато ПД восстанавливается, причем, его величина зависит от наружной концентрации Ca^{++} [12]. Ионы марганца также восстанавливают плато ПД в безнатриевом растворе [53]. Удовлетворительный компромис в объяснении всех этих фактов может быть достигнут, если предположить, что в нормальных условиях и быстрая, и медленная компонента

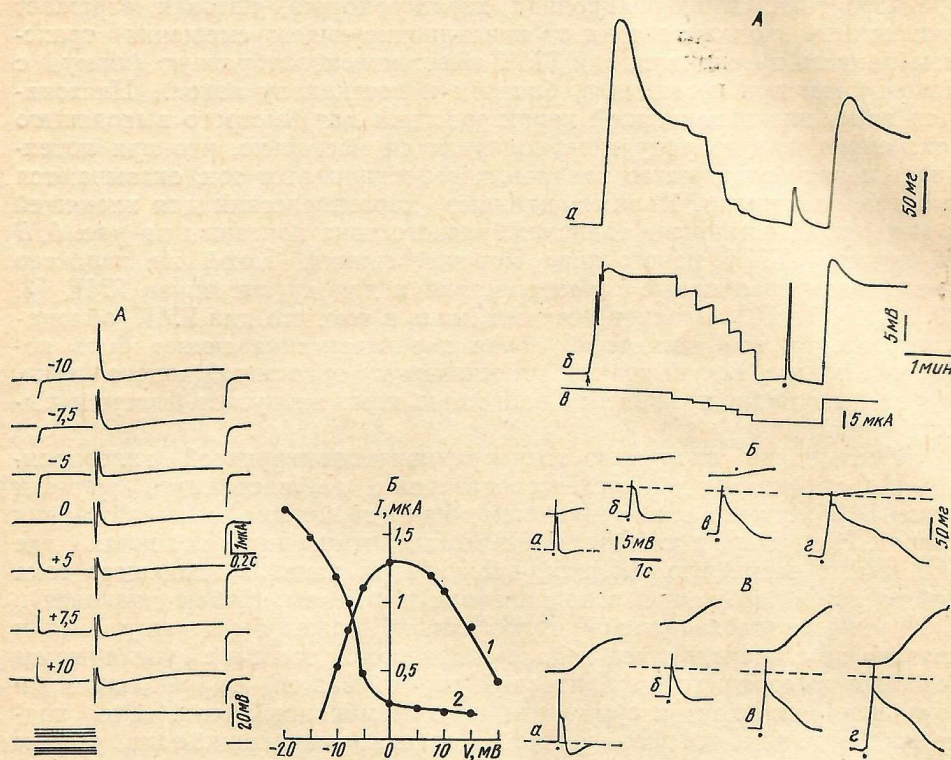


Рис. 6. Влияние кондиционирующей гипер- и деполяризации на трансмембранные ионные токи в ГМК мочеточника морской свинки.

А — трансмембранные токи, вызванные тестирующей деполяризацией мембраны на 24 мВ. Цифры возле осциллограммы токов указывают величину кондиционирующих импульсов в милливольт. Внизу показаны наложенные регистрации трансмембранного потенциала. Б — инактивационные характеристики для входящего (1) и быстрого выходящего (2) токов.

Рис. 7. Электрическая и сократительная активность ГМК фундальной части желудка (А, Б) и *taenia coli* (В) в гиперкалиевом растворе при реполяризации мембраны электрическим током.

А, а — регистрация сократительной, б — электрической активности мышечной полоски. Стрелка — начало действия гиперкалиевого раствора. Точка — момент нанесения электрического раздражения. в — регистрация реполяризующего тока. Б — осциллограммы вызванных электрическим раздражением ПД и сократительных реакций ГМК фундальной части желудка при различных уровнях реполяризации мембраны в нормальном (а) и гиперкалиевом (б, в, г) растворах. Пунктиром — исходные уровни трансмембранного потенциала в нормальном и гиперкалиевом растворах. В — то же что и Б, но для ГМК *taenia coli*.

ПД обусловлены преимущественным повышением кальциевой проводимости мембраны. Поскольку Mn^{++} более эффективно подавляет калиевую проводимость, чем кальциевую (рис. 5), и вклад калиевой проводимости во время генерации ПД довольно значителен, небольшие концентрации Mn^{++} будут оказывать потенцирующее влияние на генерацию ПД. Не исключено также, что Mn^{++} может принимать участие в переносе входящего тока через медленные Са каналы. Об этом свидетельствует уменьшение фазных сокращений, сопровождающих генерацию ПД в присутствии 2 ммоль/л Mn^{++} .

Большой вклад калиевой проводимости в генерацию ПД ГМК позволяет выявить некоторые ее свойства и без разделения входящих и выходящих токов. В суммарном трансмембранном токе выходящая компонента, связанная с активацией быстрых инактивирующихся Са ка-

налов, имеет довольно большую амплитуду. Если произвести кондиционирующее смещение мембранного потенциала в сторону гиперполяризации, то амплитуда быстрого выходящего тока увеличивается. Одновременно с этим уменьшается амплитуда входящей компоненты трансмембранного тока (рис. 6). Небольшая кондиционирующая деполяризация приводит к противоположным изменениям входящего и выходящего токов. Дальнейшее увеличение кондиционирующей деполяризации сопровождается уменьшением обеих компонент трансмембранного тока. Инактивационная характеристика, которая отражает зависимость входящего тока от кондиционирующего смещения трансмембранного потенциала, для ГМК имеет колоколообразную форму, с максимумом при потенциале, близком к потенциалу покоя. Нисходящая ветвь инактивационной характеристики для быстрого выходящего тока смещена в сторону гиперполяризации настолько, что при потенциале покоя большинство каналов, переносящих этот ток, оказываются инактивированными. Инактивационные характеристики для входящей и выходящей компонент трансмембранного тока показаны на рис. 6, Б на примере ГМК мочеточника морской свинки. Такой же характер имеют инактивационные характеристики и для других типов ГМК [3, 29, 31, 45, 50, 57]. Различия состоят лишь в том, что для ГМК, обладающих низкой возбудимостью, такая характеристика может быть построена только для выходящей компоненты трансмембранного тока, так как входящая компонента полностью компенсируется быстрым выходящим током.

Уменьшение входящего тока при кондиционирующей гиперполяризации характерно для всех исследованных до настоящего времени типов ГМК, однако оно не является общим свойством всех возбудимых тканей. Например, в нервных и скелетных мышечных волокнах, где ПД имеют натриевую природу, инактивация каналов входящего тока наблюдается только при деполяризации мембраны. Наблюдающаяся в ГМК «гиперполяризационная инактивация» может быть кажущейся и связана не с инактивацией каналов входящего тока, а с увеличением быстрого выходящего тока, который перекрывается со входящим и уменьшает его вклад в суммарный трансмембранный ток. Это подтверждается тем, что уменьшение входящего тока происходит в том же диапазоне трансмембранных потенциалов, что и увеличение выходящего тока. Кроме того, ТЭА, который частично подавляет калиевую проводимость, уменьшает также и гиперполяризационную инактивацию [50, 57].

Увеличение быстрого выходящего тока формально можно объяснить тем, что при потенциале покоя большинство Са каналов, через которые переносится этот ток, находится в состоянии стационарной инактивации. Кондиционирующая гиперполяризация мембраны устраняет эту инактивацию, в результате чего при последующей деполяризации увеличивается число каналов, способных к активации и, следовательно, увеличивается выходящий ток. Истинный механизм этого явления пока не ясен. Он может быть связан с процессами накопления и истощения K^+ в премембранных пространствах во время протекания калиевого тока. Изменения концентрации K^+ могут быть особенно заметными с наружной стороны мембраны, поскольку внеклеточное пространство в ГМ примерно вдвое меньше, чем объем мышечных клеток.

Уменьшить влияние калиевой проводимости на генерацию ПД в ГМК можно не только путем блокирования К каналов, но и посредством уменьшения калиевого концентрационного градиента. Для этого мышечные клетки помещали в гиперкалиевый раствор, содержащий Ca^{++} , а трансмембранный потенциал поддерживался на уровне потенциала покоя приложением входящего тока [10, 21]. В этих условиях активация калиевых каналов не только не препятствует, но даже способствует развитию регенеративного процесса деполяризации, приводящего к генерации ПД. Это обусловлено тем, что в диапазоне трансмембранных потенциалов более отрицательных, чем калиевый равно-

весный потенциал — E_K (в данном случае E_K близок к нулю), калиевый ток имеет входящее направление и складывается (а не вычитается, как в нормальных условиях) со входящим кальциевым током. В результате ГМК не только *taenia coli*, но и легочной артерии, и фундальной части желудка генерируют продленные ПД, сопровождающиеся фазными сокращениями, зависящими от присутствия в наружном растворе Ca^{++} . Пример такого эксперимента на ГМК фундальной части желудка и *taenia coli* показан на рис. 7. Обращает на себя

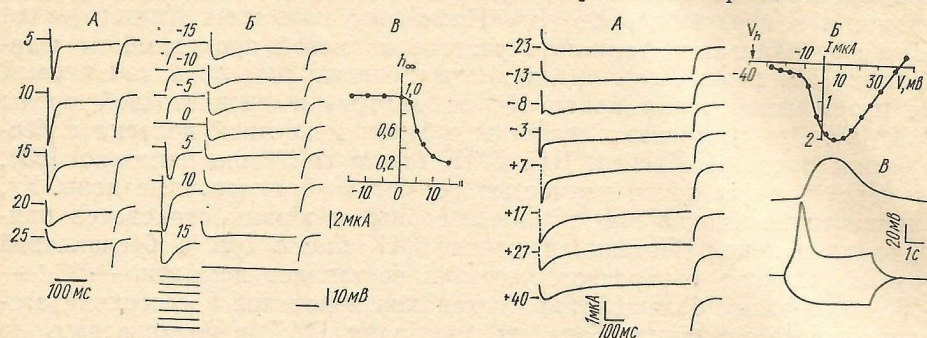


Рис. 8. Трансмембранные токи в ГМК *taenia coli*.

А — трансмембранные токи, зарегистрированные при различных по величине (указана в милливольтх возле осциллограмм) деполяризующих сдвигах трансмембранного потенциала. Б — влияние кондиционирующей гипер- и деполяризации на трансмембранные токи, вызванные тестирующей деполяризацией мембраны на 20 мВ. Цифры возле осциллограмм — величина кондиционирующих импульсов в милливольтх. Внизу — наложенные регистрации трансмембранного потенциала. В — инактивационная характеристика для входящего тока.

Рис. 9. Трансмембранные токи (А), вольт-амперные характеристики (Б) и ответы ГМК фундальной части желудка на гипер- и деполяризующие импульсы тока (В) при замене ионов калия ионами цезия.

Цифры возле осциллограмм токов — уровень трансмембранного потенциала (в милливольтх), достигаемый деполяризующими импульсами. Величина поддерживаемого потенциала (V_h) указана стрелкой. Верхняя кривая на (В) отражает сократительные реакции мышечной полоски на деполяризующий импульс раздражающего тока.

внимание тот факт, что длительность ПД в этих условиях увеличивается с повышением уровня реполяризации (рис. 7, Б, В). Это согласуется с представлением о том, что при увеличении реполяризации устраняется инактивация К каналов, и их вклад в процесс генерации ПД становится более существенным.

Несмотря на то, что кальциевый равновесный потенциал (E_{Ca}) более чем на 100 мВ превышает E_K , «овершут» ПД в этих условиях составляет только несколько милливольт. Это связано со значительным превышением суммарной проводимости К каналов в момент генерации пика ПД над проводимостью активированных Са каналов. Именно это обстоятельство, по-видимому, определяет неспособность ГМК легочной артерии и фундальной части желудка генерировать ПД в нормальных условиях.

Интересное влияние на ПД, генерируемые ГМК в гиперкалиевом растворе, оказывают ионы ТЭА. Они увеличивают величину овершута и замедляют реполяризацию той части ПД, которая превышает уровень E_K . В то же время скорость реполяризации медленной компоненты ПД, расположенной ниже уровня E_K , под действием ТЭА увеличивается [10, 21]. Такое действие ТЭА объясняется тем, что выше уровня E_K калиевые токи имеют выходящее направление и уменьшают амплитуду и длительность ПД, а при трансмембранных потенциалах, более отрицательных, чем E_K , калиевые токи складываются со входящими кальциевыми и замедляют процесс реполяризации. В присутствии ТЭА, который частично подавляет калиевые токи, кальциевая проводимость в большей степени определяет амплитуду и форму генерируемых ПД. Большая длительность ПД в этих условиях указывает на то, что инактивация кальциевой проводимости в ГМК происходит довольно медленно.

Опыты с гиперкалиевым раствором показывают также, что помимо фазных сокращений, сопровождающих ПД, ГМК способны разви-

вать тоническое сокращение, которое, как и фазное, зависит от внеклеточных ионов кальция и от уровня трансмембранного потенциала [20, 21] (см. также рис. 7, А). Это предполагает наличие в мембране ГМК неинактивирующихся потенциалозависимых Са каналов, через которые ионы кальция поступают внутрь клетки в течение всего времени, пока длится деполяризация [19].

Чтобы выделить в чистом виде кальциевые токи в ГМК, необходимо избавиться от мешающего влияния токов, переносимых другими ионами, и в первую очередь K^+ . Поскольку известные блокаторы не позволяют полностью устранить участие калиевой проводимости в генерации ПД, нами были предприняты попытки выделить кальциевый ток путем исключения ионов K^+ из внутри- и внеклеточной среды ГМК [5]. Это достигается путем инкубации мышечной полоски в бескальиовом растворе Кребса. Для ГМК *taenia coli* было показано [33], что через 4 ч они почти полностью теряют внутриклеточные ионы K^+ , а концентрация ионов Na^+ по обе стороны мембраны становится примерно одинаковой. Потенциал покоя ГМК *taenia coli* в бескальиовой среде в условиях сахарозного мостика составляет примерно — 20 ÷ — 25 мВ, поэтому большинство Са каналов находится в состоянии стационарной инактивации. Если же мембрану ГМК реполяризовать до исходного потенциала покоя входящим током, то они приобретают способность генерировать длительные ПД, сопровождающиеся фазными сокращениями. Эти ПД угнетаются при замене наружного Ca^{++} на ЭГТА, либо в присутствии верапамила или Mn^{++} , что подтверждает их кальциевую природу. Ионы ТЭА совершенно не влияют на амплитуду и форму этих ПД, что исключает возможность участия калиевой проводимости в их генерации. Опыты с фиксацией напряжения показывают, что входящий кальциевый ток ГМК *taenia coli*, лишенных вне- и внутриклеточного K^+ имеет две компоненты — быструю и медленную, различающиеся кинетикой инактивации (рис. 8). Процесс инактивации быстрой компоненты не является экспоненциальным, и завершается через 30—50 мс в зависимости от уровня деполяризации мембраны. Постоянная времени скорости инактивации медленной компоненты кальциевого тока также зависит от трансмембранного потенциала и изменяется в пределах 200—400 мс. Эти цифры, по-видимому, занижены, поскольку спад входящего тока несколько ускоряется неспецифическим выходящим током, который может переноситься Na^+ или Cl^- . Исследования стационарной инактивации Са каналов в бескальиовой среде подтверждают, что уменьшение входящего тока при кондиционирующей гиперполяризации мембраны в нормальном растворе обусловлено увеличением калиевого выходящего тока. При устранении калиевой проводимости инактивационная характеристика в области гиперполяризации становится параллельной оси абсцисс (рис. 8). Кондиционирующая деполяризация не приводит к полной инактивации кальциевой проводимости, т. к. часть входящего тока переносится через неинактивирующиеся Са каналы.

Аналогичные характеристики имеет входящий кальциевый ток в ГМК фундальной части желудка морской свинки. В эксперименте, показанном на рис. 9, калиевую проводимость устраняли путем замены внутри- и внеклеточного K^+ на Cs^+ , для которого К каналы почти непроницаемы [24, 34]. Это достигается путем нагрузки мышечных клеток раствором, в котором Na^+ и K^+ замещены Cs^+ . Нагрузка производится в присутствии нистатина, который увеличивает проницаемость мембраны для одновалентных катионов [36].

Устранение калиевой проводимости приводит к тому, что ПД ГМК фундуса превращаются из градуальных в нормальном растворе в высокоамплитудные потенциалы действия с продленной фазой реполяризации, сопровождающиеся фазными сокращениями (рис. 9). Как и в *taenia coli*, входящий кальциевый ток ГМК фундуса состоит из быстро- и медленноактивирующихся компонент. При умеренных деполяризующих сдвигах трансмембранного потенциала регистрируется

небольшой стационарный входящий ток. Однако по мере увеличения деполяризации этот ток маскируется неспецифическим выходящим током.

Опыты с ТЭА, гиперкалиевым раствором и с удалением ионов калия из внутри- и внеклеточной среды ГМК показывают, что исследованные типы гладких мышц, независимо от их способности генерировать ПД в нормальных условиях, обладают кальциевыми каналами, характеристики которых не имеют существенных различий. Обращает на себя внимание также сходство формы ПД, генерируемых ГМК *taenia coli* и фундальной части желудка при исключении калиевой проводимости. Учитывая приведенные ранее аргументы, это позволяет предположить, что разнообразие электрофизиологических свойств гладких мышц различных органов, в основном, связано с различиями в характеристиках их калиевых каналов.

Модуляция возбудимости гладких мышц. Опыты, в которых изучалось влияние блокаторов К каналов, удаление K^+ из внутри- и внеклеточной среды, влияние гиперкалиевого раствора, убеждают нас в том, что калиевая проводимость играет важную роль в механизме генерации ПД ГМК, определяя его амплитуду, длительность и форму. Исходная возбудимость различных типов ГМК также контролируется величиной вклада калиевой проводимости в суммарную проводимость мембраны, в то время как система кальциевых каналов остается практически одинаковой как в хорошо возбудимых ГМК (*taenia coli*), так и в тех ГМК, которые в нормальных условиях не способны генерировать ПД (легочная артерия, фундус). Это означает, что и модуляция возбудимости ГМК в зависимости от конкретных физиологических условий может осуществляться через систему калиевых каналов [2, 30]. Для этого могут быть использованы разные пути. Один из них состоит в том, что проводимость потенциалозависимых К каналов может дополнительно управляться рецепторами, специфическими для определенного физиологически активного вещества (ФАВ) или медиатора, которые увеличивают либо уменьшают проводимость этих каналов. При этом, если рецептор управляет проводимостью каналов быстрого выходящего тока, увеличение проводимости этих каналов приведет к уменьшению амплитуды ПД (вплоть до подавления регенеративного процесса деполяризации), ускорению фазы реполяризации ПД, с возможным подавлением плато. Уменьшение проводимости быстрых калиевых каналов вызовет обратные изменения ПД. Если рецептор изменяет проводимость медленного калиевого канала, то это скажется, в основном, на амплитуде и длительности плато ПД, на следовой гиперполяризации мембраны, что в свою очередь может влиять на частоту спонтанных ПД. Примеры использования такого механизма регуляции возбудимости ГМК в физиологических условиях довольно многочисленны. Очень показательным в этом отношении является действие простагландинов E_1 и $F_{2\alpha}$ на мышечные клетки мочеточника [32]. Эти простагландины в довольно низких концентрациях (10^{-9} моль/л) способны обратимо угнетать генерацию ПД ГМК мочеточника. В опытах с фиксацией напряжения было показано, что эта способность простагландинов связана с тем, что они увеличивают быстрый выходящий калиевый ток (рис. 10). В отличие от простагландинов, норадреналин увеличивает длительность плато ПД ГМК мочеточника, а также амплитуду и особенно длительность фазных сокращений [14, 52]. Это действие НА опосредовано через α -адренорецепторы (поскольку оно блокируется фентоламином) и связано с подавлением калиевой проводимости мембраны [13, 14]. Аналогичный механизм действия предполагается и для гистамина, который в еще большей степени чем норадреналин увеличивает длительность плато ПД и сокращений [13, 14, 52]. Однако, в отличие от норадреналина, гистамин, по-видимому, может увеличить и натриевую проводимость мембраны [13, 52]. Интересно отметить, что на калиевую проницаемость, вовлекаемую в механизм действия норадреналина и гистамина, не влияет ТЭА [52], но в

то же время она блокируется апамином [13]. Норадреналин действует через уменьшение калиевой проводимости мембраны также на ГМК легочной артерии [4]. Это сказывается в повышении их возбудимости. В присутствии норадреналина эти мышечные клетки приобретают способность генерировать ПД.

Другой путь вовлечения калиевой проводимости в регуляцию возбудимости гладкомышечных клеток опосредован через зависимость инактивации каналов быстрого выходящего тока от уровня трансмембранного потенциала. Поскольку при потенциале покоя значительная часть быстрых калиевых каналов находится в инактивированном

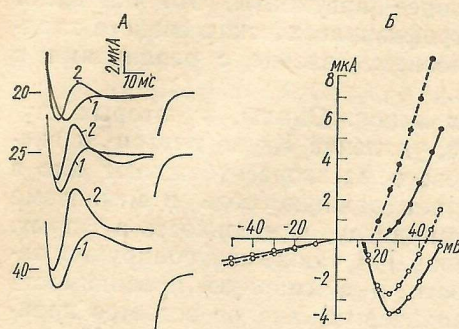


Рис. 10. Действие простагландина $F_{2\alpha}$ на трансмембранные токи ГМК мочеточника (А) и вольт-амперные характеристики (Б) для быстрого входящего (○) и быстрого выходящего (●) токов.

1 и 2 — соответственно трансмембранные токи в нормальном растворе и после добавления простагландина. Сплошная линия — контроль, штриховая — $PGF_{2\alpha}$ 10^{-7} моль/л.

состоянии (рис. 6), любая гиперполяризация мембраны приведет к уменьшению возбудимости ГМК не только из-за увеличения порога возбуждения, но и благодаря тому, что увеличится проводимость быстрых К каналов. Противоположное действие оказывает деполяризация мембраны. При этом инактивация К каналов увеличивается, и они в меньшей степени будут препятствовать регенеративному процессу генерации ПД. Этот механизм может иметь существенное значение в потенциации передачи тормозящих и возбуждающих синаптических нервных влияний на ГМК. Кроме того, этот механизм, по-видимому, всегда вовлекается в процесс гуморальной регуляции возбудимости, если ФАВ вызывает изменение трансмембранного потенциала. При этом сам рецептор к данному ФАВ может быть связан с натриевыми, или потенциалонезависимыми калиевыми каналами, которые непосредственного участия в генерации ПД не принимают.

Интересно отметить, что если деполяризация мембраны, вызванная каким либо гуморальным, или синаптическим воздействием, достаточна для активации инактивирующихся кальциевых каналов, то фазное сокращение может быть активировано даже в том случае, если регенеративный процесс деполяризации не происходит из-за повышения калиевой проводимости. При продолжительной деполяризации такое сокращение возникает только в начале деполяризации. Если же активирующая деполяризация имеет периодический характер (синаптические потенциалы, медленные волны), то фазное сокращение будет возникать также периодически. Необходимо отметить, что регуляция возбудимости ГМК через систему калиевых каналов не исключает возможность участия в этом процессе каналов входящего кальциевого тока.

Функциональное значение потенциалов действия в гладких мышцах. Функционирование многих типов гладких мышц связано с распространением возбуждения на значительные расстояния. Примером могут служить гладкие мышцы желудочно-кишечного тракта, мочеточника, матки, некоторых сосудов, функция которых связана с созданием перистальтических движений. Механизм распространения возбуждения в гладких мышцах долгое время оставался неясным, поскольку морфологическими исследованиями не были обнаружены протоплазматические связи между мышечными клетками, через которые электрическое возбуждение могло бы передаваться от клетки к клетке. Тем не менее,

нами было показано, что электротонический потенциал в гладкой мышце может распространяться на расстояние, значительно превышающее размеры мышечных клеток [15, 18]. Величина электротонического потенциала уменьшалась с расстоянием по экспоненциальному закону. Это означает, что между отдельными мышечными клетками существует хорошая электрическая связь, несмотря на отсутствие протоплазматических контактов. В этом отношении гладкая мышца ведет себя как целый проводник, и распространение возбуждения в ней может осуществляться по тому же принципу, что и в нервном волокне. Позже наличие эффективной электрической связи между отдельными ГМК было показано не только в хорошо возбудимых гладких мышцах [22, 48, 50], но и в эластических сосудах [9], которые в нормальных условиях не возбудимы.

В настоящее время тот факт, что распространение возбуждения в ГМ осуществляется посредством локальных токов, которые протекают между возбужденными и покоящимися участками мышцы, является хорошо обоснованным. Следовательно, как и в нервных волокнах, ПД в ГМ выполняет функцию распространения возбуждения вдоль мышцы.

Специального обсуждения требует вопрос о связи возбуждения ГМК с их сокращением. Как и в поперечнополосатых мышцах, активация сократительного механизма в ГМК запускается Ca^{++} при повышении его концентрации во внутриклеточной среде критического уровня, составляющего $10^{-7} \div 10^{-6}$ моль/л [37, 39, 41]. Максимальное укорочение ГМК наблюдается при внутриклеточной концентрации Ca^{++} около $10^{-5} \div 10^{-4}$ моль/л [37]. В поперечнополосатых мышцах повышение внутриклеточной концентрации Ca^{++} происходит благодаря его высвобождению под влиянием ПД из саркоплазматического ретикулума (СР). В гладких мышцах СР развит очень слабо [35], а система Т-трубочек, через которые возбуждение поверхностной мембраны в скелетных мышцах довольно быстро передается к СР, вообще отсутствует. Эти и другие факты [20] свидетельствуют о том, что участие запасенного во внутриклеточных местах хранения ГМК Ca^{++} в активации сокращения, инициируемого потенциалом действия, маловероятно. В отличие от поперечнополосатых мышц, генерирующих натриевые ПД, в ГМК возбуждение обеспечивается входом Ca^{++} внутрь клетки. Поэтому возникает естественно вопрос, не может ли кальциевый ток, входящий в клетку во время генерации ПД, увеличить внутриклеточную концентрацию $[\text{Ca}]_i$ выше порогового уровня. Количество Ca^{++} , входящего внутрь клетки во время генерации ПД, можно рассчитать по количеству электричества, необходимому для того, чтобы изменить потенциал мембраны, обладающей емкостью на величину, равную амплитуде ПД [25]. Основанная на таком расчете оценка дает увеличение $[\text{Ca}]_i$ до $2,6 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Этого количества Ca^{++} должно быть достаточно для активации значительного, но не максимального сокращения ГМ. В действительности такая ситуация и наблюдается в экспериментальных условиях. Фазные сокращения, сопровождающие одиночные ПД, как правило, имеют небольшую амплитуду и суммируются в зубчатый или слитный тетанус, если ПД следуют друг за другом с небольшим интервалом. Однако, участие Ca^{++} в активации сократительного механизма предполагает его связывание внутри клетки с соответствующими белками, поэтому увеличение концентрации $[\text{Ca}]_i$ до $2,6 \cdot 10^{-6}$ моль/л может оказаться недостаточным для активации сокращения. Это обстоятельство иногда рассматривается как аргумент в пользу того, что в активации сокращения должен принимать участие внутриклеточно связанный кальций, освобождение которого запускается Ca^{++} , поступившим из внеклеточной среды [25]. С другой стороны, проведенные нами исследования ГМК в бескальциевой среде показывают, что в приведенном выше расчете может быть сделана существенная недооценка количества Ca^{++} , поступающего в клетку во время генерации ПД. В этих расчетах предполагается, что Ca^{++} поступает внутрь клетки только во время фазы нарастания ПД, а пос-

ле достижения максимума ПД трансмембранный ток становится равным нулю. Это действительно так, однако нулевое значение тока достигается не за счет того, что кальциевый ток уменьшается до нуля, а за счет сложения входящего кальциевого тока с выходящим калиевым. Вследствие того, что кальциевая проводимость инактивируется довольно медленно, входящий кальциевый ток будет протекать даже во время нисходящей фазы ПД, хотя суммарный трансмембранный ток в это время будет иметь выходящее направление за счет увеличившейся калиевой проводимости. Поэтому более правильным было бы оценивать количество Ca^{++} , входящего в клетку во время генерации ПД по результатам измерения чистого входящего тока в опытах с фиксацией напряжения. В этом случае количество электричества (Q), перенесенное внутрь клетки входящим током $i(t)$ определяется площадью, ограниченной кривой, отражающей зависимость входящего тока от времени $Q = \int_0^{t_0} i(t) dt$. Верхний предел интегрирования t_0 должен соответствовать длительности ПД. Если считать, что входящий ток инактивируется по экспоненциальному закону $i(t) = i_0 e^{-\frac{t}{\tau}}$, где i_0 — максимальное значение входящего тока, а τ — постоянная времени инактивации, то $Q = \int_0^{t_0} i_0 e^{-\frac{t}{\tau}} dt = i_0 \tau (1 - e^{-\frac{t_0}{\tau}})$. Количество молей кальция, переносающих этот заряд будет Q/zF (z — валентность, F — число Фарадея), а концентрация ионов Ca^{++} , создаваемая этим током в объеме V определится следующим выражением: $[\text{Ca}]_i = \frac{i_0 \tau (1 - e^{-\frac{t_0}{\tau}})}{zFV}$ (1).

Если оценку производить по результатам экспериментов, проведенных в условиях сахарозного мостика, то объем V должен соответствовать объему всех мышечных клеток, находящихся в тестучастке. Его можно оценить, исходя из геометрических размеров мышечной полоски в тестучастке, исключив внеклеточный объем, составляющий около 35 %. По нашим оценкам, $V = 10^{-8}$ л, а постоянная времени инактивации, полученная в опытах с бескальиевым раствором имеет порядок сотен миллисекунд. Если для расчета взять $i_0 = 1$ мкА, $\tau = 300$ мс, то для ПД длительностью 100 мс внутриклеточная концентрация Ca^{++} увеличится на $4 \cdot 10^{-5}$ моль/л. Это соответствует активации сократительных белков, близкой к максимальной, если не учитывать связывания Ca^{++} внутри клетки. В соответствии с формулой (1) для более длительных ПД количество Ca^{++} , поступающего в клетку, увеличится, что подтверждается экспериментальными наблюдениями [12, 53]. По закону Ома ток через кальциевые каналы определяется суммарной проводимостью Ca каналов (G) и разностью потенциалов между трансмембранным потенциалом E и равновесным потенциалом для Ca^{++} (E_{Ca}). $i_{\text{Ca}} = G(E - E_{\text{Ca}})$. Из этого выражения следует, что входящий кальциевый ток уменьшается по мере того, как амплитуда ПД приближается к E_{Ca} . Учитывая, что кальциевая проводимость инактивируется довольно медленно, можно считать, что наиболее эффективными, в смысле активации сократительных белков, будут низкоамплитудные, но продолжительные ПД. Именно такие ПД реализуются в гладкомышечных клетках.

Таким образом, достаточно много аргументов свидетельствуют в пользу того, что функциональное значение ПД, генерируемых ГМК, заключается в активации сократительных белков посредством Ca^{++} , поступающего в клетку из наружной среды через потенциалозависимые кальциевые каналы.

Выводы. Генерация ПД мембраной ГМК обеспечивается двумя основными потенциалозависимыми ионными проводимостями — кальциевой и калиевой. По кинетическим характеристикам потенциалозависимая кальциевая проводимость может быть разделена на две ком-

поненты — быструю инактивирующуюся и медленную неинактивирующуюся. Потенциалозависимой кальциевой проводимостью обладают также электроневозбудимые в нормальных условиях гладкие мышцы.

Возбудимость ГМК, а также амплитуда, длительность и форма генерируемых ими ПД зависят от вклада в суммарную проводимость потенциалозависимой калиевой проводимости мембраны ГМК, которая активируется одновременно с кальциевой. В калиевой проводимости мембраны также могут быть выделены три компонента — быстрая, медленноинактивирующаяся и стационарная, вклад которых в суммарную проводимость мембраны не одинаков в разных типах ГМК и может изменяться при действии медиаторов или ФАВ либо непосредственно, через хеморецепторы, управляющие проводимостью соответствующей компоненты, либо опосредованно через изменение трансмембранного потенциала.

Физиологическая роль ПД в ГМК состоит в том, что они обеспечивают проведение возбуждения вдоль гладкой мышцы и активируют сократительный механизм мышечных клеток с помощью Ca^{++} , вошедшего в клетку во время генерации ПД. При этом облегчение или блокада проведения возбуждения регулируется преимущественно через изменение амплитуды ПД, а величина сокращения — через длительность ПД.

M. F. Shuba, V. A. Bury

MEMBRANE MECHANISMS OF THE SMOOTH MUSCLE CELL EXCITATION

The voltage-clamp method combined with original procedures of ionic conductance separation shows that action potential generation in smooth muscles is provided with activation of membrane calcium conductance. Calcium conductance has a rather slow inactivation kinetics and ensures prolonged action potential generation. The ability of different types of smooth muscles to excitation as well as the amplitude and duration of their action potentials are determined by the properties of potassium permeability which overlaps with the calcium one. Peculiarity of voltage-dependence of the fast potassium channels also suggests their indirect participation in excitability modulation mediated through the resting potential alterations. Arguments are presented in favour of participation of Ca^{++} ions entering the cell during action potential generation in activation of contractile mechanism.

A. A. Bogomoletz Institute of Physiology,
Academy of Sciences, Ukrainian SSR, Kiev

Список литературы

1. Артеменко Д. П., Бурый В. А., Владимирова И. А., Шуба М. Ф. Модификация метода одиночного сахарозного мостика. — Физиол. журн., 1982, 28, № 3, с. 374—380.
2. Бурый В. А. Про механізм регуляції збудливості гладеньких м'язів. — В кн.: Тез. доп. XI з'їзду Укр. фізіол. т-ва, Дніпропетровськ, вересень 1982 р. К.: Наук. думка, 1982, с. 55—56.
3. Бурый В. А., Гурковская А. В. Трансмембранные ионные токи в гладкой мышце легочной артерии. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1980, № 11, с. 519—521.
4. Бурый В. А., Гурковская А. В. Ионный механизм возбуждающего действия норадреналина на гладкомышечные клетки легочной артерии. — Там же, 1983, № 3, с. 8—11.
5. Бурый В. А., Гурковская А. В., Шуба М. Ф. Выделение трансмембранного кальциевого тока гладкомышечных клеток в бескальциевой среде. — Докл. АН СССР, 1983, 268, № 2, с. 481—485.
6. Бурый В. А., Шуба М. Ф. Роль ионов натрия и кальция в генерации потенциалов действия гладкомышечными клетками мочеточника морской свинки. — Физиол. журн. СССР, 1974, 60, № 8, с. 1288—1297.
7. Валеев А. Е. Селективность кальциевых каналов соматической мембраны нейронов *Helix pomatia* для ионов кальция, стронция и бария. — Нейрофизиология, 1979, 11, № 4, с. 371—374.
8. Гурковская А. В. Влияние тетраэтиламмония на электрофизиологические свойства гладкомышечных клеток легочной артерии. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1977, № 2, с. 134—136.
9. Гурковская А. В., Бурый В. А. Биофизические свойства гладких мышц эластических артерий. — Биофизика, 1977, 22, № 4, с. 676—679.

10. Гурковская А. В., Шуба М. Ф., Бурый В. А. О природе электромеханической связи в гладкомышечных клетках легочной артерии. — Физиол. журн. СССР, 1983, 69, № 8, с. 1065—1073.
11. Кочемасова Н. Г. Роль ионов натрия и кальция в генерации потенциалов действия в гладких мышечных клетках мочеточника. — Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1971, № 9, с. 9—13.
12. Кочемасова Н. Г. Роль ионов кальция в формировании потенциала действия гладкомышечных клеток мочеточника в безнатриевом растворе. — Физиол. журн., 1982, 28, № 2, с. 206—211.
13. Кочемасова Н. Г. Влияние апамина на генерацию потенциалов действия в гладкомышечных клетках мочеточника. — Там же, 1983, 29, № 2, с. 218—221.
14. Кочемасова Н. Г., Шуба М. Ф. Действие адреноблокаторов и катехоламинов на электрофизиологические свойства мышечных клеток мочеточника. — Физиол. журн. СССР, 1972, 58, № 8, с. 1287—1294.
15. Шуба М. Ф. Физический электротон в гладкой мышце. — Биофизика, 1961, № 6, с. 52—59.
16. Шуба М. Ф. Действие ионов натрия на физический электротон в гладких мышцах. — Там же, 1962, № 7, с. 193—200.
17. Шуба М. Ф. Об электрических свойствах гладкой мышцы. — Там же, 1965, 10, № 4, с. 64—71.
18. Шуба М. Ф. Электрофизиологические свойства мембраны гладких мышечных клеток. — В кн.: Протоплазматические мембраны и их функциональная роль. Киев: Наук. думка, 1965, с. 90—107.
19. Шуба М. Ф. Пути и механизмы трансмембранного входа в гладкомышечные клетки ионов кальция, участвующих в активации сокращения. — Физиол. журн., 1981, 27, № 4, с. 533—541.
20. Шуба М. Ф. Механизмы сопряжения возбуждения — сокращения в сосудистых гладких мышцах. — В кн.: Кальций в сердечно-сосудистой системе. Каунас, 1982, с. 24—60.
21. Шуба М. Ф., Гурковская А. В., Бурый В. А. Об электрогенезе и сокращении гладкой мышцы *taenia coli*, находящейся в растворе с повышенной концентрацией ионов калия. — Физиол. журн. СССР, 1982, 68, № 10, с. 1367—1375.
22. Abe Y., Tomita T. Cable properties of smooth muscle. — J. Physiol., 1968, 196, N 1, p. 87—100.
23. Anderson N. C., Ramon F., Snyder A. Studies on calcium and sodium in uterine smooth muscle excitation under current-clamp and voltage-clamp conditions. — J. Gen. Physiol., 1971, 58, N 3, p. 322—339.
24. Bezanilla F., Armstrong C. M. Negative conductance caused by the entry of sodium and cesium ions into the potassium channels of squid axons. — J. Gen. Physiol., 1972, 60, N 2, p. 588—608.
25. Bolton T. B. Mechanisms of action of transmitters and other substances on smooth muscle. — Physiol. Rev., 1979, 59, N 3, p. 607—718.
26. Bolton T. B., Tomita T., Vassort G. Voltage clamp and the measurement of ionic conductances in smooth muscle. — In: Smooth muscle: an assessment of current knowledge. London: Edward Arnold, 1981, p. 47—63.
27. Brading A. F., Bülbring E., Tomita T. The effect of sodium and calcium on the action potential of the smooth muscle of the guinea-pig *taenia coli*. — J. Physiol., 1969, 200, N 2, p. 637—654.
28. Bülbring E., Kuriyama H. Effect of changes in external sodium and calcium concentration on spontaneous electrical activity in smooth muscle of guinea-pig *taenia coli*. — J. Physiol., 1963, 166, N 1, p. 29—58.
29. Bury V. A. Superposition of inward and outward currents in the ureter smooth muscle during excitation. — In: Physiology and pharmacology of smooth muscle. Sofia: Bulg. Acad. Sci., 1977, p. 32—37.
30. Bury V. A. Role of the fast outward current in regulation of smooth muscle cells excitability. — In: Abst. of papers of the 2nd inter. symp. «Physiology and pharmacology of smooth muscle». Varna, 1979, p. 44.
31. Bury V., Boev K. Studies on the transmembrane ion currents in the smooth-muscle cells of the gastric fundus. — Experimentia, 1980, 36, N 2, p. 216—217.
32. Bury V. A., Radomirov R. Voltage-clamp study of prostaglandin $F_{2\alpha}$ effect on guinea-pig ureter smooth muscle. — Agressologie, 1980, 21, N 2, p. 93—95.
33. Castcels R., Droogmans G., Hendrickx H. Membrane potential of smooth muscle cells in K-free solution. — J. Physiol., 1971, 217, N 1, p. 281—295.
34. Ciani S., Hagiwara S., Miyazaki S. A model for Cs blocking of the K conductance in anomalous rectification. — Biophys. J., 1977, 17, N 1, p. 46a.
35. Devine C. E., Somlyo A. V., Somlyo A. P. Sarcoplasmic reticulum and mitochondria as cation accumulating sites in smooth muscle. — Phil. Trans. R. Soc., 1973, 265, N 1, p. 17—23.
36. Eckert R., Tillitson D. L. Calcium-mediated inactivation of the calcium conductance in caesium-loaded giant neurons of *Aplysia californica*. — J. Physiol., 1981, 314, N 1, p. 265—280.
37. Endo M., Kitazawa T., Yagi S. et al. Some properties of chemically skinned smooth muscle fibers. — In: Excitation-contraction coupling in smooth muscle. Amsterdam: Elsevier, 1977, p. 199—209.
38. Fatt P., Ginsborg B. L. The ionic requirements for the production of action potentials in crustacean muscle fibres. — J. Physiol., 1958, 142, N 2, p. 516—543.