

7. Nesheim B.-I. Effect of noradrenaline and isoprenaline on the circular and longitudinal muscle of the oestrogen dominated rabbit uterus // Acta pharmacol. and toxicol. — 1972. — 31, N 2. — P. 296—304.
8. Quirk S., Currie W. Uterine steroid receptor changes in late pregnancy associated with progesterone withdrawal in rabbits // Biol. Reprod. — 1981. — 24, suppl. 1. — P. 27A.
9. Zander H., Pauerstein C., Fremming B., Filner B. Failure of propranolol to antagonize halatone depression of the uterus // Anesthesiol. and Analg. Curr. Res. — 1970. — 49, N 6. — P. 948—955.

Челяб. мед. ин-т МЗ СССР. Поступила 11.04.85

УДК 577.37:577.352.4.5:591.044.2:612.819

З. А. Сорокина, И. В. Чижмаков

ЗАВИСИМОСТЬ ПРОЦЕССА БЛОКИРОВАНИЯ ТЕТРОДОТОКСИНОМ ВХОДЯЩЕГО НАТРИЕВОГО ТОКА ОТ СОДЕРЖАНИЯ В СРЕДЕ ИОНОВ НАТРИЯ

Современное представление о молекулярных механизмах блокирующего действия тетродотоксина (ТТХ) и сакситоксина (СТХ) на быстрые натриевые каналы возбудимых мембран основано на их способности взаимодействовать с определенными рецепторными участками образующих канал белковых молекул. Как показали исследования, проведенные различными электрофизиологическими методами, это взаимодействие обнаруживает исключительно высокую аффинность, уникальную специфичность и носит некооперативный и обратимый характер [15, 24, 28]. Содержание в среде одновалентных катионов оказывает незначительное влияние на взаимодействие с натриевыми каналами СТХ и ТТХ [9, 10].

В то же время в литературе широко распространение получили представления о том, что одновалентные катионы существенно снижают связывание СТХ и ТТХ. Данные такого рода получены в опытах, в которых исследовалось взаимодействие меченых препаратов токсинов с изолированными мембранными фракциями различных тканей [8, 14, 20, 25, 27, 34]. Нельзя не отметить противоречивость этих данных. На одних препаратах взаимодействие ионов натрия среды и токсинов представляет собой обычную конкуренцию за участки связи, а на других обнаруживает свойства кооперативного процесса с коэффициентом Хилла более двух. Конкурентные взаимоотношения ТТХ и одновалентных катионов рассматриваются авторами этих работ как доказательство наличия в наружном устье канала катионсвязывающей кислотной группы, входящей в состав селективного фильтра и рецептора токсина.

В настоящем исследовании предпринята попытка проверить представления о конкурентных взаимоотношениях между ионами натрия и ТТХ, исследуя входящие натриевые токи нервных клеток в условиях внутриклеточного диализа и фиксации потенциала.

Методика

Опыты проводили в условиях внутриклеточного диализа (перфузии) с использованием метода фиксации потенциала на мембране изолированных нейронов спинальных ганглиев крыс возраста 14—21 сут [2]. Методика изоляции нейронов не отличалась от описанной ранее [5]. Для устранения калиевого входящего тока клетки перфузировали раствором трис-фтор (концентрация 150 ммоль/л, рН 7,2). Основной наружный раствор содержал (ммоль/л): NaCl — 125, CaCl₂ — 2,0, MgCl₂ — 2,0, трис-HCl или Нерес-NaOH — 20,0; рН раствора 7,36. В растворах с уменьшенной концентрацией натрия NaCl замещали эквимолярным количеством трис-HCl. Исходный потенциал на мембране (holding potential) фиксировали на уровне — 100 мВ, и измерения транс-

мембранных токов производили в условиях фиксации потенциала. Ток, протекающий в отсутствие фиксации потенциала, подавали на входной канал с помощью операционного усилителя. В работе использовали комнатной температуре 20—22°C. Для статистической обработки результатов использовали критерий Фишера. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

где R — рецепторный участок, на который связывается одна молекула токсина. Взаимодействие характеризуется отчетливо выраженной термодинамической стабильностью [33].

В стационарном состоянии (θ) можно определить зависимость от концентрации ионов натрия (Na⁺) потенциала (φ) по следующему уравнению:

где I(0) — амплитуда входящего тока в отсутствие токсина. Зная зависимость от концентрации (K_d) образующегося комплекса (R₁), можно определить зависимость от концентрации ионов натрия (Na⁺) потенциала (φ) по следующему уравнению:

Здесь T — концентрация токсина. Из уравнения (1) можно определить зависимость от концентрации ионов натрия (Na⁺) потенциала (φ) по следующему уравнению:

где τ₁ — постоянная времени входящего тока. $1/\tau_1 = k_1 T + k_2$.

При отмывке уменьшение амплитуды входящего тока происходит за счет уменьшения концентрации ионов натрия (Na⁺) в среде.

где τ₂ — постоянная времени входящего тока. τ₂ = 1/k₂.

В первой серии опытов (рис. 1) изучали влияние ТТХ на входящий ток (θ) от концентрации ионов натрия (Na⁺). Во-первых, видно, что в отсутствие токсина зависимость от концентрации ионов натрия (Na⁺) потенциала (φ) по следующему уравнению:

naline on the circular and longitu-
uterus // Acta pharmacol. and toxi-

ges in late pregnancy associated with
od. — 1981. — 24, suppl. 1. — P. 27A.
3. Failure of propranolol to antogo-
iol. and Analg. Curr. Res. — 1970. —

Поступила 11.04.85

БЛОКИРОВАНИЯ НАТРИЕВОГО ТОКА ИОНОВ НАТРИЯ

лярных механизмах блоки-
и сакситоксина (СТХ) на
ембран основано на их спо-
ыми рецепторными участка-
Как показали исследования,
ическими методами, это вза-
высокую аффинность, уни-
ративный и обратимый ха-
е одновалентных катионов
анмодействие с натриевыми

распространение получили
катионы существенно сни-
кого рода получены в опы-
е меченых препаратов ток-
акциями различных тканей
противоречивость этих дан-
ионов натрия среды и ток-
енцию за участки связи, а
ивного процесса с коэффи-
е взаимоотношения ТТХ и
авторами этих работ как
канала катионсвязывающей
активного фильтра и рецеп-
а попытка проверить пред-
и между ионами натрия
нервных клеток в услови-
тенциала.

диализа (перфузии) с использо-
волированных нейронов спиналь-
ка изоляции нейронов не отлича-
вого входящего тока клетки пер-
моль/л, рН 7,2). Основной на-
аCl₂ — 2,0, MgCl₂ — 2,0, трис-НСl
ах с уменьшенной концентрацией
трис-НСl. Исходный потенциал
не — 100 мВ, и измерения транс-

мембранных токов производили при максимуме вольтамперной характеристики их пиковых значений. Ток, протекающий через мембрану при деполяризующем смещении потенциала, подавали на вход аналого-цифрового преобразователя ЭВМ, осуществляющей обработку информации.

В работе использовали тетродотоксин фирмы «Sankyo». Опыты проводили при комнатной температуре 20—22 °С. При статистической обработке данных методами вариационной статистики подсчитывали стандартную ошибку среднего.

Результаты

В области физиологических внеклеточных концентраций Na⁺ пиковые значения входящего натриевого тока обнаруживают линейную зависимость от [Na⁺]_o. Процесс блокирования быстрых натриевых каналов ТТХ формально можно описать уравнением



где R — рецепторный участок канала, с которым обратимо взаимодействует одна молекула токсина, k₁ и k₂ — константы. Такой процесс характеризуется отчетливым насыщением и хорошо описывается изотермой Ленгмюра [33].

В стационарном состоянии долю числа заблокированных ТТХ каналов (Θ) можно определить с помощью пиковых значений входящего натриевого тока по следующей формуле:

$$\Theta = \frac{I(0) - I(T)}{I(0)}, \quad (2)$$

где I(0) — амплитуда входящего натриевого тока без токсина, I(T) — с токсином. Зная значение Θ, можно рассчитать константу диссоциации (K_д) образующегося комплекса токсин — канал:

$$K_d = T \frac{1 - \Theta}{\Theta}. \quad (3)$$

Здесь T — концентрация токсина.

Из уравнения (1) следует, что по мере увеличения времени экспозиции клетки в растворе с ТТХ значение Θ будет расти экспоненциально до стационарного значения

$$\Theta(t) = \frac{T}{K_d + T} (1 - e^{-t/\tau_1}), \quad (4)$$

где τ₁ — постоянная времени процесса блокирования входящего натриевого тока. 1/τ₁ = k₁T + k₂.

При отмывке уменьшение Θ будет описываться формулой

$$\Theta(t) = \frac{T}{K_d + T} e^{-t/\tau_2}, \quad (5)$$

где τ₂ — постоянная времени распада (диссоциации) комплекса токсин — канал. τ₂ = 1/k₂.

В первой серии опытов, проведенной на большом числе клеток (n = 87), изучали влияние внеклеточной концентрации Na⁺ на стационарные характеристики процесса блокирования ТТХ входящего натриевого тока. На рис. 1 представлена зависимость доли заблокированных ТТХ каналов (Θ) от концентрации токсина в среде при разной [Na⁺]_o. Во-первых, видно, что экспериментальные данные хорошо согласуются с представлением об одномолекулярном механизме взаимодействия токсин — канал, и, во-вторых, свидетельствуют о том, что в мембране нейронов спинальных ганглиев имеется лишь один тип рецепторов ТТХ. Константы диссоциации комплекса токсин — канал (K_д) при

концентрациях натрия 40, 90 и 125 ммоль/л составляли $(3,28 \pm 0,31) \times 10^{-9}$, $(3,32 \pm 0,36) \cdot 10^{-9}$ и $(3,41 \pm 0,35) \cdot 10^{-9}$ моль соответственно. Среднее значение K_d составляло $(3,40 \pm 0,28) \cdot 10^{-9}$ моль.

Таким образом, обнаруживается тенденция к увеличению K_d при повышении концентрации ионов натрия в среде, но различия между ее значениями статистически незначимы.

Поскольку K_d представляет собой отношение констант скоростей обратной и прямой реакции взаимодействия ТТХ с натриевым каналом, $K_d = k_2/k_1$, то в принципе не исключена возможность одновременного их изменения таким образом, что K_d остается постоянной (в пределах ошибки опыта). С целью проверки этого предположения во второй серии опытов исследовали кинетику формирования и диссоциации

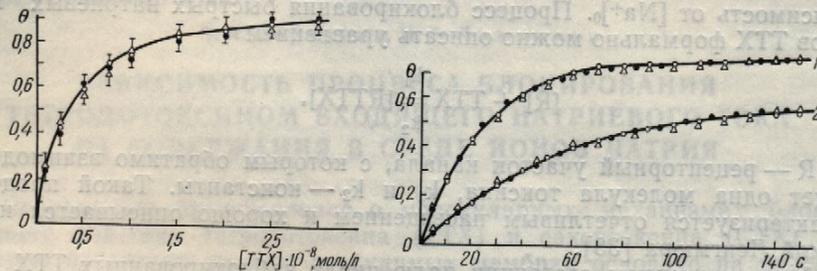


Рис. 1. Зависимость доли блокированных ТТХ натриевых каналов (θ) от концентрации ТТХ (10^{-8} моль/л) при различном содержании ионов натрия в наружном растворе (моль/л):

● — 125; ○ — 90, △ — 40.

Рис. 2. Зависимость доли блокированных ТТХ натриевых каналов (θ) от времени при концентрациях ТТХ 10^{-8} моль/л (1) и $5 \cdot 10^{-8}$ моль/л (2) и различных концентрациях ионов натрия в наружном растворе (обозначения те же, что и на рис. 1).

комплекса ТТХ — канал, позволяющую рассчитать независимую каждую из констант скоростей уравнений (4) и (5). Опыты проводили следующим образом. Диализируемые нейроны помещали в раствор, содержащий определенные концентрации ТТХ и $[Na^+]_o$, до достижения стационарного состояния, а затем отмывали раствором Рингера без ТТХ до стационарных значений входящего натриевого тока. На рис. 2 представлена временная зависимость доли блокированных ТТХ натриевых каналов при двух различных концентрациях ТТХ и трех — натрия в среде — 40, 90 и 125 ммоль/л. Как видно, кинетика блокирования ТТХ входящего натриевого тока в растворах при разных концентрациях ионов натрия существенно не различается. Значения k_1 и k_2 оказались почти идентичными в каждом из исследованных растворов и составляли $3,58 \cdot 10^6$ моль $^{-1}$ с $^{-1}$ и $1,3 \cdot 10^{-2}$ с $^{-1}$.

На рис. 3 показана кинетика диссоциации комплекса ТТХ — канал при тех же концентрациях натрия. Значения k_2 в этом случае составляют $1,11 \cdot 10^{-2}$ с $^{-1}$. Заметим, что аналогичные значения k_1 и k_2 получены в кинетических исследованиях, проведенных на других объектах [33].

Таким образом, независимость обеих констант скоростей от $[Na^+]_o$ приводит к постоянству значений K_d в исследуемых пределах концентраций этих ионов.

Следующим прямым доказательством отсутствия конкуренции ионов натрия среды и ТТХ за связывающий центр рецептора являются данные, полученные в третьей серии опытов. Как уже говорилось, в области физиологических внеклеточных концентраций Na^+ пиковые значения входящего натриевого тока линейно зависят от $[Na^+]_o$. Если заблокировать ТТХ 40% каналов, а затем при той же концентрации токсина изменить $[Na^+]_o$ со 125 до 0 ммоль/л, то линейная зависимость пиковых значений тока от содержания в среде Na^+ должна искривиться в случае конкуренции за связывающий центр рецептора.

Эта зависимость будет увеличением сродства, и ТТХ за участки связывания на рис. 4. Как видим, о значений входящего натр

Приведенные эксперименту, что в области рия в среде взаимодейст тора быстрых натриевых

Таким образом, проло, что разные методы

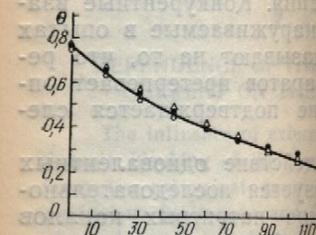


Рис. 3. Зависимость доли бло от времени в период десорб концентрации ионов

Рис. 4. Изменение амплитуды ции ионов натрия в среде в о (2). Амплитуда нормировалас в отсутствие ТТХ при

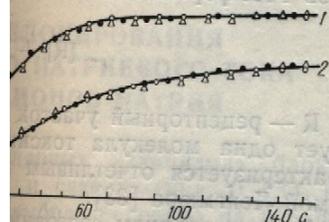
зрения относительно вли токсина с каналами. П анализа данных, получ электрофизиологическим обходило выяснять, это канале и характер взаи следние годы исследова новным направлениям: СТХ и гуанидина [17— биологической (денерв мической модификации реagensов на определен и 3-е — сравнительное и с высокой и низкой ТТХ-

Полученные экспери селективный фильтр на прежнее представлени тор ТТХ расположен вности мембраны. иденти молекул токсинов, кот гуанидиновая группа и модействия ТТХ с рецел ния. Авторы некоторых группа, вероятно, вступа лотной (карбоксильной) входа в канал. Группы-

оль/л составляли $(3,28 \pm 0,31) \times 10^{-9}$ моль соответственно. Сред-
 10^{-9} моль.

тенденция к увеличению K_d при
 в среде, но различия между

отношение констант скоростей
 ствия ТТХ с натриевым кана-
 чена возможность одновремен-
 д остается постоянной (в пре-
 и этого предположения во вто-
 формирования и диссоциации



риевых каналов (θ) от концентрации
 ионов натрия в наружном растворе

40.

риевых каналов (θ) от времени при
 ь/л (2) и различных концентрация
 ления те же, что и на рис. 1).

считать независимо каждую
). Опыты проводили следую-
 помещали в раствор, содер-
 X и $[Na^+]_0$, до достижения
 али раствором Рингера без
 о натриевого тока. На рис. 2
 ии блокированных ТТХ нат-
 онцентрациях ТТХ и трех —
 Как видно, кинетика блоки-
 в растворах при разных
 не различается. Значения
 ждом из исследованных рас-
 $3 \cdot 10^{-2} \text{ с}^{-1}$.

иации комплекса ТТХ — ка-
 ачения k_2 в этом случае со-
 логичные значения k_1 и k_2
 проведенных на других объ-

онстант скоростей от $[Na^+]_0$
 следующих пределах концен-

и отсутствия конкуренции
 ий центр рецептора являют-
 ытов. Как уже говорилось,
 концентраций Na^+ пиковые
 но зависят от $[Na^+]_0$. Если
 и при той же концентрации
 ь/л, то линейная зависи-
 ания в среде Na^+ должна
 ывающий центр рецептора.

Эта зависимость будет вогнутой, если уменьшение $[Na^+]_0$ вызывает
 увеличение сродства, и выпуклой, если ионы натрия конкурируют с
 ТТХ за участки связывания. Результаты этих опытов представлены
 на рис. 4. Как видим, отклонений от линейной зависимости пиковых
 значений входящего натриевого тока от $[Na^+]_0$ не наблюдается.

Обсуждение

Приведенные экспериментальные данные позволяют прийти к зак-
 лчению, что в области физиологических концентраций ионов нат-
 рия в среде взаимодействие ТТХ со связывающими центрами реце-
 птора быстрых натриевых каналов не зависит от $[Na^+]_0$.

Таким образом, проведенное нами исследование еще раз показа-
 ло, что разные методы приводят к прямо противоположным точкам

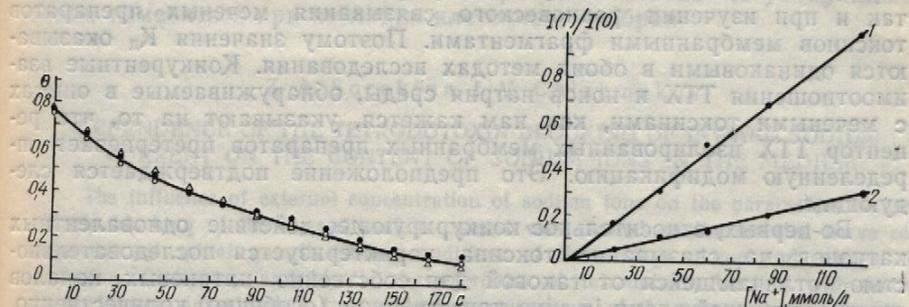


Рис. 3. Зависимость доли блокированных ТТХ (10^{-8} моль/л) натриевых каналов (θ)
 от времени в период десорбции в нормальном рингеровском растворе при различных
 концентрациях ионов натрия (обозначения те же, что и на рис. 1).

Рис. 4. Изменение амплитуды входящего натриевого тока при уменьшении концентра-
 ции ионов натрия в среде в отсутствие ТТХ (1) и при концентрации ТТХ 10^{-8} моль/л
 (2). Амплитуда нормировалась на постоянное пиковое значение силы тока, измеренной
 в отсутствие ТТХ при концентрации натрия 125 ммоль/л: $I(t)/I(0)$.

зрения относительно влияния факторов внешней среды на связывание
 токсина с каналами. Поэтому возникает необходимость детального
 анализа данных, полученных двумя альтернативными методами —
 электрофизиологическим и изотопным. Первый вопрос, который не-
 обходимо выяснить, это месторасположение рецепторных участков в
 канале и характер взаимодействия с ними ТТХ и ионов натрия. В по-
 следние годы исследования в этой области проводили по трем ос-
 новным направлениям: 1-е — применение различных дериватов ТТХ,
 СТХ и гуанидина [17—19, 22, 26, 32]; 2-е — использование методов
 биологической (денервация ткани, культура ткани) [12—31] и хи-
 мической модификации канального белка (применение специфических
 реагентов на определенные функциональные группы) [7, 23, 25, 29]
 и 3-е — сравнительное изучение свойств натриевых каналов у клеток
 с высокой и низкой ТТХ-аффинностью [6, 16].

Полученные экспериментальные данные позволяют считать, что
 селективный фильтр натриевого канала и рецептор ТТХ, вопреки
 прежним представлениям [15], пространственно разобщены. Реце-
 птор ТТХ расположен вблизи устья канала, на наружной поверх-
 ности мембраны. Идентифицированы функционально важные участки
 молекул токсинов, которыми являются положительно заряженная
 гуанидиновая группа и незаряженные части молекул. О природе взаи-
 модействия ТТХ с рецептором на сегодняшний день нет единого мнe-
 ния. Авторы некоторых работ [17—19] полагают, что гуанидиновая
 группа, вероятно, вступает в электростатическое взаимодействие с кис-
 лотной (карбоксильной) группой рецептора, расположенной вблизи
 входа в канал. Группы — гуанидиновая, С-4, С-6 и С-11 — располага-

образуют с рецептором сла-
К оказывается, таким образом,
ы. По мнению других авторов
представляет собой двухста-
исходит нейтрализация поло-
ы, образующей ионную связь
жет привести к перемещению
2-4, что вызовет дегидратацию
анного кетона при С-12, и в
й группой рецептора образу-
того, предполагается возмож-
вязей [17—19].

пторной части натриевого ка-
ы может обусловить сходство
физиологических исследованиях,
ывания меченых препаратов
озтому значению K_d оказыва-
едования. Конкурентные вза-
ы, обнаруживаемые в опытах
я, указывают на то, что ре-
препаратов претерпевает оп-
ожение подтверждается сле-

щее действие одновалентных
ктеризуется последовательно-
ственно натриевых каналов
ю и (особенно) количественно.
вного волокна лягушки по-
этом сродство к Na^+ по-
ишь в 2 раза. У собственно
отношения проницаемостей
ные по измерению потенци-
 $Tl^+ : K^+ = 1,0 : 0,93 : 0,33 :$

ентных катионов на связы-
данным одних авторов од-
ую конкуренцию за места
их — кооперативные взаимо-
2 [37]. В то же время вза-
а всех исследованных элект-
носит некооперативный ха-

е число экспериментальных
ли макроструктуры натрие-
их его конформации, сопро-
и инактивированное состоя-
и при различного рода фар-
ий канал, обуславливая его
льно, что ряд свойств пата-
атах мембран оказываются
отношении полученные не-
аналах мозга и скелетных
наптомом или мембранных
ойные липидные мембраны
батрахотоксином, эти кана-
язывание ТТХ и СТХ. По-
Кроме того, связывание
ьку k_1 зависела от их кон-
ес представляют эффекты
— химических агентов, воз-

действующих на воротное устройство натриевых каналов. Эти веще-
ства вызывают одновременные изменения процессов активации, инак-
тивации и ионной селективности натриевых каналов. Последняя из-
меняется таким образом, что относительная проницаемость канала
для таких ионов, как NH_4^+ , Tl^+ , K^+ , гуанидий значительно увеличи-
вается и канал становится заметно проницаемым для Rb^+ , Cs^+ , Ca^{2+}
и метиламмония [1, 3, 4]. Нельзя не обратить внимания на то, что
селективность модифицированных батрахотоксином и аконитином ка-
налов и относительное конкурирующее действие одновалентных ка-
тионов на связывание ТТХ мембранными фрагментами весьма сходны.

Суммируя сказанное, можно заключить, что обнаруженные кон-
курентные взаимоотношения ТТХ и ионов натрия на изолированных
мембранных препаратах обусловлены, вероятно, специфическими из-
менениями конформационного состояния канала. Таким образом, оп-
ределенные свойства интактных натриевых каналов могут принципи-
ально изменяться при изоляции клеточных мембран.

Z. A. Sorokina, I. V. Chizhnikov

DEPENDENCE OF THE TETRODOTOXIN BLOCKING OF INWARD SODIUM CURRENT ON THE CONTENT OF SODIUM IONS IN THE MEDIUM

The influence of external concentration of sodium ions on the parameters of tetro-
dotoxin blocking of the inward sodium current was studied on the isolated nerve cells
from the rat spinal ganglia under conditions of the voltage clamp and intracellular
perfusion. Stationary and kinetic characteristics of tetrodotoxin binding with sodium
channels were investigated. Independent measurements of the rate constants for direct
and inverse blocking reactions with different concentrations of sodium ions have shown
that the dissociation constant K_d of the toxin-channel complex is independent of the ex-
ternal concentration of sodium ions, that testifies to the absence of the competition be-
tween tetrodotoxin and Na^+ for one binding centre. Arguments are presented which show
that alternative results obtained by the study of the labelled toxin preparations' binding
with isolated membrane fractions of different tissues may be induced by the specific
changes in the conformation state of sodium channels.

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

1. Зубов А. Н., Наумов А. П., Ходоров Б. И. Действие батрахотоксина на натриевые каналы мембраны клеток нейробластомы // Цитология. — 1984. — 26, № 4. — С. 415—423.
2. Крышталь О. А., Пидопличко В. И. Внутриклеточная перфузия гигантских нейронов улитки // Нейрофизиология. — 1975. — 7, № 3. — С. 327—329.
3. Можаява Г. Н., Наумов А. П., Негуляев Ю. А. Влияние аконитина на некоторые свойства натриевых каналов мембраны перехвата Ранвье // Там же. — 1976. — 8, № 2. — С. 152—160.
4. Ревенко Е. В., Ходоров Б. И. Влияние батрахотоксина на селективность натриевых каналов в мембране миелинизированного нервного волокна // Там же. — 1977. — 9, № 3. — С. 313—317.
5. Сорокина З. А., Чижмаков И. В., Еляков Г. Б. и др. Исследование механизма инактивации быстрых натриевых каналов с помощью нейротоксина из актинии *Radianthus macrodactylus* и различных химических реагентов // Физиол. журн. — 1984. — 30, № 5. — С. 571—578.
6. Чемерис Н. К. Специфичность действия тетродотоксина на нейроны моллюска // Биофизика. — 1982. — 27, № 4. — С. 738—739.
7. Baker P. F., Rubinson K. A. TTX-resistant action potentials in crab nerve after treatment with Meerwein's reagent // J. Physiol. — 1977. — 266, N 1. — P. 3—4P.
8. Barchi R. L., Weigle J. B. Characteristics of saxitoxin binding to the sodium channel of sarcolemma isolated from rat skeletal muscle // Ibid. — 1979. — 295. — P. 383—396.
9. Colquhoun D., Ritchie J. M. The interaction at equilibrium between tetrodotoxin and mammalian non-myelinated nerve fibres // Ibid. — 1972. — 221, N 3. — P. 533—554.
10. Colquhoun D., Henderson R., Ritchie J. M. The binding of labelled tetrodotoxin to non-myelinated nerve fibres // Ibid. — 1972. — 227, N 1. — P. 95—126.
11. French R. J., Worley J. F., Krueger B. K. Voltage-dependent block by saxitoxin of sodium channels incorporated in planar lipid bilayers // Biophys. J. — 1984. — 45, N 3. — P. 301—312.

12. Fukuda J., Kameyama M. Tetrodotoxin-sensitive and tetrodotoxin-resistant sodium channels in tissue-cultured spinal ganglion neurons from adult mammals // *Brain Res.* — 1980.—182, N 1.— P. 191—197.
13. Green W. N., Weiss L. B., Andersen O. S. Voltage- and Na⁺-dependent tetrodotoxin (TTX) block of batrachotoxin (BTX)-modified sodium channels // *Biophys. J.* — 1984.— 45, N 2, pt. 2.— P. 68—74.
14. Henderson R., Ritchie J. M., Strichartz G. R. Evidence that tetrodotoxin and saxitoxin act at a metal cation binding site in the sodium channels of nerve membrane // *Proc. Nat. Acad. Sci U. S. A.* — 1974.—71, N 12.— P. 3996—3940.
15. Hille B. The receptor for tetrodotoxin and saxitoxin: A structural hypothesis // *Biophys. J.* — 1975.—15, N 5.— P. 615—619.
16. Huang L.-Y. M., Catterall W. A., Ehrenstein G. Comparison of ionic selectivity of batrachotoxin-activated channels with different tetrodotoxin dissociation constants // *J. Gen. Physiol.* — 1979.— 73, N 6.— P. 839—854.
17. Kao C. J. New perspectives on the interactions of tetrodotoxin and saxitoxin with excitable membranes // *Toxicon.* — 1983.—21 (Suppl. 3).— P. 211—219.
18. Kao C. Y., Walker S. E. Active groups of saxitoxin and tetrodotoxin as deduced from actions of saxitoxin analogues on frog muscle and squid axon // *J. Physiol.* — 1982.— 323.— P. 619—637.
19. Kao P. N., James-Kracker M. R., Kao C. J. The active guanidinium group of saxitoxin and neosaxitoxin identified by the effects of pH on their activities on squid axon // *Pflügers Arch.* — 1983.—398.— P. 199—203.
20. Lazdunski M., Balerna M., Barhanin J. et al. Biochemical studies of the structure, mechanism and differentiation of the voltage-sensitive sodium channel // *Neurochem. Int.* — 1980.— N 2.— P. 61—71.
21. Moczydlowski E., Garber S. S., Miller Ch. Batrachotoxin-activated Na⁺ channels in planar lipid bilayers. Competition of tetrodotoxin block by Na⁺ // *J. Gen. Physiol.* — 1984.—84, N 5.— P. 665—686.
22. Moczydlowski E., Sherwood H., Garber S. S. et al. Voltage-dependent blockade of muscle Na⁺ channels by guanidinium toxins. Effect of toxin charge // *Ibid.* — 1984.— 84.— N 5.— P. 687—704.
23. Mozhayeva G. N., Naumov A. P., Nosyreva E. D. Effect of water-soluble carbodimide on gating in sodium channels // *Biochem. et biophys. acta.* — 1984.—774, N 2.— P. 288—292.
24. Narahashi T. Chemicals as tools in the study of excitable membranes // *Physiol. Rev.* — 1974.—54, N 6.— P. 813—889.
25. Reed J. F., Raftery M. A. Properties of tetrodotoxin binding compound in plasma membranes isolated from *Electrophorus electricus* // *Biochemistry.* — 1976.—15, N 5.— P. 944—953.
26. Reed J. K., Trzos W. Interaction of substituted guanidines with the tetrodotoxin-binding component in *Electrophorus electricus* // *Arch. Biochem. and Biophys.* — 1979.— 195, N 3.— P. 414—422.
27. Rhoden V. A., Golden S. M. The binding of saxitoxin to axolemma of mammalian brain // *J. Biol. Chem.* — 1979.—254, N 22.— P. 11199—11201.
28. Ritchie J. M., Rogart R. B. The binding of saxitoxin and tetrodotoxin to excitable tissue // *Rev. Physiol. Biochem. and Pharmacol.* — 1977.—79, N 1.— P. 1—51.
29. Shrager P., Projera Ch. Inhibition of the receptor for tetrodotoxin in nerve membranes by reagents modifying carboxyl groups // *Biochim. et biophys. acta.* — 1973.— 318, N 1.— P. 141—146.
30. Spalding B. Properties of toxin-resistant channels produced by chemical modification in frog skeletal muscle // *J. Physiol.* — 1980.—305.— P. 485—500.
31. Stefani E., Chiarandini D. J. Ionic channels in skeletal muscle // *Ann. Rev. Physiol.* — 1982.—44.— P. 357—372.
32. Strichartz G. G. Structural determinants of the affinity of saxitoxin for neuronal sodium channels. Electrophysiological studies on frog peripheral nerve // *J. Gen. Physiol.* — 1984.—84, N 2.— P. 281—305.
33. Ulbricht W. Kinetics of neurotoxin action at the nodal membrane // *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* — 1983.—364, N 6.— P. 622—626.
34. Weigele J. B., Barchi R. L. Saxitoxin binding to the mammalian sodium channel: Competition by monovalent and divalent cations // *FEBS Letters.* — 1978.—95, N 1.— P. 49—53.

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

Поступила 15.07.85

ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ РАЗДРА

Центральная регуляция очень слабо, хотя участвует в процессах, происходящих в физиологами и клиническими

В серии опытов, показано выраженное влияние раздражения кровотока в печени [7], а также в рефлекторных и вазомоторных структурах. Однако, в отношении влияния раздражения, то о нем имеются [1, 3].

Цель настоящего исследования — изучить влияние раздражения некоторых структур на состав классического и венозной артерии и воротной вены областей.

Исследования выполнены на собаках массой 8—20 кг под наркозом. Для регистрации электрических потенциалов использовались электроды диаметром 0,5 мм. Координаты изучаемых областей определялись по атласу [1]. Импульсы от стимулятора ЭСГ подавались с частотой 50 с⁻¹; длительность импульсов — 2 мс.

Давление в сонной артерии и воротной вене записывали с помощью электроманометра ЭМ-1. Для измерения расхода крови в воротной вене использовали расходомер с датчиком, работающим с различной скоростью. Соединения датчика с веной осуществляли с помощью резиновых трубок. Давление в воротной вене измеряли с помощью манометра РГ 4-01 и определяли по графикам эксперимента. Запись всех параметров осуществляли на осциллограмме.

В ходе опыта животных переводили на искусственное дыхание.

Средние значения давления в воротной вене — (3,9 ± 0,1) гПа, в печеночной вене — (132,7 ± 6,1) мл/мин или (469,1 ± 16,9) мл/мин.

Раздражение исследуемых структур в ряду со значительными изменениями вызывало выраженные изменения давления в воротной вене (рис. 1, 2). Так, в 82 случаях из 100 наблюдались значительные прессиорные реакции.