

1. *Богач П. Г.* Влияние физиологически активных веществ на электрическую и механическую активность гладких мышц // 14-й съезд физиологического общества в Баку в 1983 г.—Л.: Наука, 1983 г.—С. 14—15.
2. *Воронцов Д. С.* Влияние постоянного тока на нерв, обработанный водой, растворами сахара, хлоридов щелочных и щелочноземельных металлов // Рус. физиол. журнал.—1924.—7, № 1.—С. 79—94.
3. *Воронцов Д. С., Юденич Н. В.* К анализу электрической реакции нервного процесса // Сб. работ Казанского мед. ин-та.—1933.—9—10, № 3—4.—С. 108—129.
4. *Воронцов Д. С.* Токи действия скелетных мышц лягушки // Физиол. журн. СССР.—1947.—33, № 1.—С. 81—100.
5. *Воронцов Д. С.* Раздражительность и возбуждение как общие свойства живых образований // Науч. записки Ин-та физиологии Киев. ун-та.—1947.—2.—С. 9—68.
6. *Воронцов Д. С.* О природе электрических потенциалов живых тканей // Гагские беседы.—Тбил.: Изд-во АН ГрССР, 1949.—1—С. 149—193.
7. *Костюк П. Г., Крышталь О. А.* Механизмы электрической возбудимости нервной клетки.—М.: Наука, 1971.—204 с.
8. *Костюк П. Г.* Основные принципы организации каналов, определяющих электрическую возбудимость нейрональной мембраны // Журн. эволюц. биохимии и физиологии.—1983.—19, № 4.—С. 333—339.
9. *Костюк П. Г.* Ионные каналы в мембране нервной клетки и их метаболический контроль // Успехи физиологических наук.—1984.—15, № 3.—С. 7—22.
10. *Костюк П. Г.* Кальций и клеточная возбудимость.—М.: Наука, 1986.—254 с.
11. *Кудинов С. А.* Системы транспорта Ca^{2+} в нервных клетках: Киев: Наук. думка, 1983.—160 с.
12. *Курский М. Д., Михайленко Е. Г., Федоров А. Н.* Транспорт кальция и функция гладких мышц.—Киев: Наук. думка, 1982.—172 с.
13. *Лишко В. К.* Натриевый насос биологических мембран.—Киев: Наук. думка, 1977.—144 с.
14. *Магура И. С.* Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны.—Киев: Наук. думка, 1981.—206 с.
15. *Серков Ф. Н.* Ток действия скелетной мышцы // Учен. записки Казан. ун-та.—1934.—94, № 3.—С. 3—9.
16. *Серков Ф. Н.* Механизмы регулирующие возбудимость нейронов коры головного мозга // Актуальные проблемы современной физиологии.—Киев: Наук. думка, 1986.—С. 99—102.
17. *Серков Ф. Н.* Природа и синаптические механизмы торможения в нейронах коры головного мозга // Физиол. журн.—1985.—31, № 5.—С. 513—525.
18. *Скок В. И.* Физиологические свойства никотиновых холинорецепторов нейронов симпатического ганглия // Нейрофизиологи.—1984.—16, № 3.—С. 319—326.
19. *Шуба М. Ф., Бурый В. А.* Мембранные механизмы возбуждения гладкомышечных клеток // Физиол. журн.—1984.—30, № 5.—С. 545—559.

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

Поступила 27.06.86

УДК 577.354:612.89:612.822

В. И. Скок

БЛОКАДА ОТКРЫТОГО ИОННОГО КАНАЛА КАК МЕХАНИЗМ ИЗБИРАТЕЛЬНОГО БЛОКИРОВАНИЯ СИНАПТИЧЕСКОЙ ПЕРЕДАЧИ

Давно известно, что ионные каналы электровозбудимых мембран могут избирательно блокироваться определенными веществами, которые связываются с каналом в открытом состоянии. Классическими примерами являются местные анестетики для натриевых каналов [34, 55] и тетраэтиламоний для калиевых каналов [6, 7].

Блокирование открытого канала наблюдалось также в химически возбудимых мембранах [4, 8, 9, 14, 20, 45]. Однако из-за большого разнообразия веществ, способных блокировать хемотропные каналы в открытом состоянии (местные анестетики, барбитураты, бис-четвертичные аммониевые соединения, алкалоиды и т. д.), этот тип блокирования обычно представлялся менее избирательным, чем классический конкурентный механизм блокирования [8, 9, 10, 35]. В этой статье представлено доказательство, что блокирование открытого ка-

нала может быть высокоизбирательным и определять избирательное блокирование синаптической передачи.

Механизм блокирования открытого канала. Первое доказательство того, что блокирование хемоправляемых каналов в открытом состоянии имеет отношение к избирательному блокированию синаптической

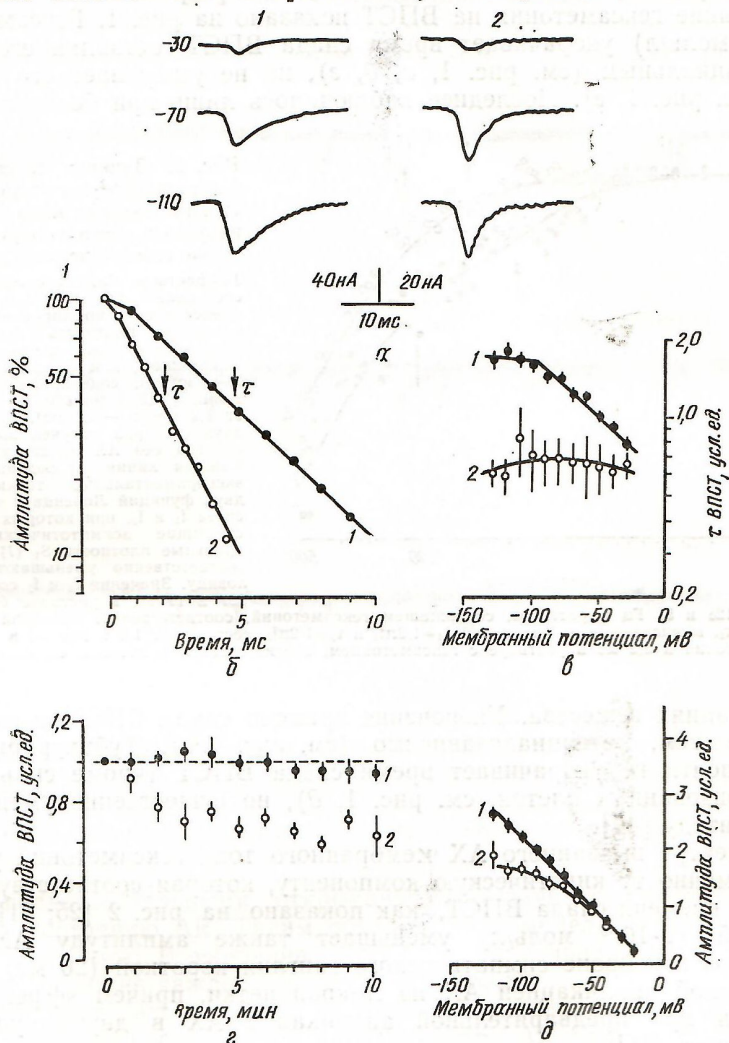


Рис. 1. Действие гексаметония (10 мкмоль/л) на возбуждающие постсинаптические токи (ВПСТ), отводимые от нейронов верхнего шейного ганглия кролика:

а — ВПСТ, зарегистрированные при разных мембранных потенциалах, выраженных в милливольтках, (калибровка амплитуды для левых и правых записей отлична); б — спад нормализованной амплитуды ВПСТ как функции времени (полулогарифмический масштаб; мембранный потенциал составляет -70 мВ; стрелками показаны постоянные времени спада — τ , которые составляют 4,8 и 2,3 мс); в — зависимость τ ВПСТ (нормализована относительно значения при -50 мВ) от уровня мембранного потенциала (абсолютное значение τ в растворе без гексаметония при -80 мВ составляет $4,5 \text{ мс} \pm 0,3 \text{ мс}$; точки — средние значения и стандартные ошибки среднего; на этой позиции рисунка число наблюдений составляет 3, далее — на г и д — 6); г — амплитуда (1) и τ (2) ВПСТ, зарегистрированные при -50 мВ, как функции времени после начала перфузии гексаметонием (нормализовано относительно контрольного раствора); д — амплитуда ВПСТ как функция мембранного потенциала (амплитуда нормализована относительно раствора без гексаметония при -50 мВ и температуре 36°C [47]). На всех позициях (кроме г) этого рисунка представлена графическая характеристика показателей в растворе без гексаметония (1) и с гексаметонием (2).

передачи, было получено в результате сравнения влияния двух веществ — гексаметония и тубокурарина — на возбуждающий постсинаптический ток (ВПСТ) в нейронах верхнего шейного ганглия кролика [47]. Хотя тубокурарин почти в пять раз эффективнее гексаметония при блокировании синаптической передачи в симпатическом ганглии [15, 30], гексаметониевый блок более избирателен, так как он

проявляется в ганглии при гораздо меньших концентрациях блокатора, чем в других объектах, имеющих никотиновые ацетилхолиновые (АХ) рецепторы, в частности, в нервно-мышечной передаче [13, 44]. Тубокурарин, напротив, почти в четыре раза эффективнее в нервно-мышечной передаче, чем в симпатическом ганглии [32].

Влияние гексаметония на ВПСТ показано на рис. 1. Гексаметоний ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) укорачивает время спада ВПСТ, оставляя его одноэкспоненциальным (см. рис. 1, а, б, г), но не уменьшает его амплитуду (см. рис. 1, г). Последнее наблюдалось лишь при более высоких

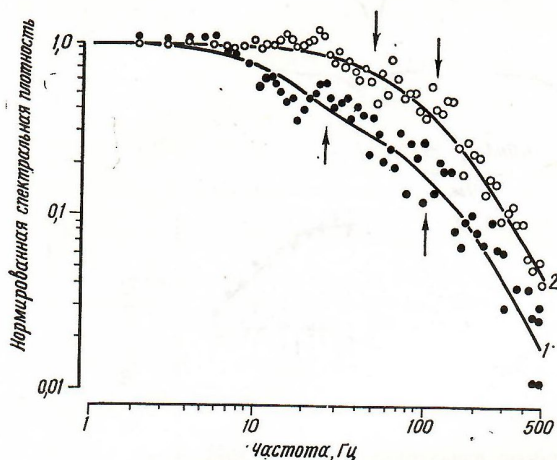


Рис. 2. Влияние гексаметония на среднее время открытого состояния ионных каналов, активируемых ацетилхолином в нейроне симпатического ганглия:

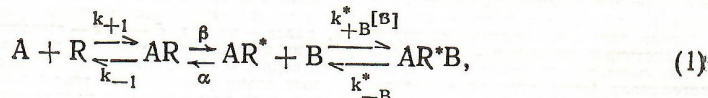
1 — раствор без гексаметония (τ_1 составляет 1,5 мс; τ_2 — 10,6 мс); представлена нормированная спектральная плотность флюктуаций мембранного тока, вызванных ацетилхолином, как функция частоты; 2 — раствор, содержащий гексаметоний ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л); τ_1 составляет 1,2 мс; τ_2 — 3,2 мс). Каждый из двух спектров получен вычитанием спектра без АХ из спектра с АХ. Каждая линия, проведенная через экспериментальные точки, — сумма двух функций Лоренца с частотами среза f_1 и f_2 , при которых соответствующие асимптотические спектральные плотности S_1 (1) и S_2 (2) соответственно уменьшаются наполовину. Значения f_1 и f_2 составляют 107 и 15 Гц в растворе без гексаметония и 128 и 51 Гц в растворе, содержащем гексаметоний, соответственно (отмечены стрелками) [51].

метония и 128 и 51 Гц в растворе, содержащем гексаметоний, соответственно (отмечены стрелками) [51].

концентрациях вещества. Укорочение времени спада ВПСТ, вызванное гексаметонием, потенциалозависимо (см. рис. 1, г). Тубокурарин, наоборот, почти не укорачивает время спада ВПСТ (кроме сильно гиперполяризованных клеток, см. рис. 1, д), но существенно уменьшает его амплитуду [47].

В спектре вызванного АХ мембранного тока гексаметоний укорачивает именно ту кинетическую компоненту, которая соответствует постоянной времени спада ВПСТ, как показано на рис. 2 [25; 51]. Гексаметоний ($1 \cdot 10^{-5}$ моль/л) уменьшает также амплитуду АХ-тока, вызванного в нейроне симпатического ганглия короткой (20 мс) ионофоретической аппликацией АХ из микропипетки, причем эффект увеличивался при предварительной аппликации АХ в двухимпульсном эксперименте [51].

Эти результаты показывают, что гексаметоний потенциалозависимо укорачивает время открытого состояния управляемых АХ каналов, причем это зависит от частоты токов, вызванных АХ. Такие особенности обычно рассматриваются как признаки блока открытого канала, который может быть описан следующей моделью [4, 54]:



где А — агонист; R — постсинаптический рецептор; В — блокатор, [В] — концентрация блокатора; AR, AR* и AR*B — комплексы агонист — рецептор в закрытом, открытом и заблокированном состояниях соответственно, k_{+1} , k_{-1} , α , k_{+B}^* и k_{-B}^* — соответствующие константы скорости. Постоянная времени спада ВПСТ и кинетический компонент, определенный по спектру шума, вызванного АХ, в нейронах симпатического ганглия, соответствует кажущемуся, а не истинному, среднему времени открытого состояния («времени жизни») управляемого

АХ канала. Следовательно, кажущееся среднее время жизни является временем существования комплекса $AR\ AR^*$, образованного при связывании R с A . В течение этого времени происходит около 5 переходов между AR и AR^* (при комнатной температуре). Это приводит к пачке из 5 последовательных открываний канала, причем каждое одиночное открывание соответствует отдельному состоянию AR^* , за которым следует появление одиночного тока, а каждый интервал



Рис. 3. Токи в одиночном ионном канале никотинового холинорецептора верхнего шейного ганглия крысы под влиянием ацетилхолина (30 мкмоль — верхняя запись) и гептаметония (30 мкмоль — средняя запись; 100 мкмоль — нижняя запись) [26].

между последовательными открываниями в пачке соответствует отдельному состоянию AR . Таким образом, если модель (1) верна, следует ожидать, что B укорачивает каждое одиночное открывание канала и пачку, но не каждое одиночное закрывание.

Чтобы проверить это предположение, изучали влияние гептаметония на активность одиночного активируемого АХ канала в нейронах верхнего шейного ганглия крысы [26] методом «пэч-клемп» в модификации «с клеткой» [33]. Гептаметоний использовали из-за высоких значений его $k^*_{-в}$ по сравнению с таковой у гексаметония и сильной потенциалозависимости его $k^*_{+в}$ и $k^*_{-в}$ по сравнению с таковыми у других хорошо диссоциирующих блокаторов открытого канала [52]. Первое свойство позволяет наблюдать активность одиночного канала даже при постоянном наличии гептаметония в пэч-пипетке, а второе — усиление блокирования открытого канала гептаметония гиперполяризацией клочка мембраны.

Средняя длительность одиночного открывания канала, одиночного закрывания и пачки определялась как постоянная времени спада соответствующих кривых распределения. Для определения длительности пачки игнорировали все кратковременные закрывания.

Рис. 3 и табл. 1 показывают полученные результаты. Гептаметоний заметно укорачивает длительность пачки и одиночного открываний, причем эффект усиливается при увеличении концентрации антагониста. На одиночное закрывание и амплитуду токов одиночных каналов гептаметоний не влиял, что соответствует модели [1].

Блок открытого канала — не единственный тип блокирования, вызванного гептаметонием, который может блокировать также закрытый управляемый АХ канал. Этот эффект подтверждается тем, что гиперполяризующий скачок, примененный за несколько миллисекунд до появления ВПСТ, уменьшал его амплитуду при наличии $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л гептаметония. Уменьшение амплитуды ВПСТ не наблюдалось без применения гептаметония или при большем промежутке времени между гиперполяризующим толчком и ВПСТ [48], использовании вместо гептаметония пентаметония — вещества, проявляющего заметное конкурентное действие (см. ниже). Последние наблюдения говорят о том, что механизм блока закрытого канала не идентичен механизму конкурентного блокирования.

Таблица 1. Влияние гептаметония на активность одиночного холинорецепторного канала

Раствор в пипетке	I , нА	τ_{31} , мс	τ_{02} , мс	τ_{02} , мс
Ацетилхолин, 30 мкМ (n=4)	$2,2 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,02$	$2,62 \pm 0,11$	$8,54 \pm 1,22$
Ацетилхолин, 30 мкМ и гептаметоний, 30 мкМ (n=4)	$2,0 \pm 0,07$	$0,12 \pm 0,02$	$1,00 \pm 0,05$	$1,55 \pm 0,13$

Примечание. В этой таблице и в табл. 2 (n) — число наблюдений.

Соотношение между блокированием открытого канала и блокированием передачи. Простые теоретические рассуждения показывают, что блокирование открытых каналов в постсинаптической мембране должно приводить по крайней мере к частичному блокированию синаптической передачи. Уменьшение времени открытого состояния каналов, управляемых передатчиком, уменьшает электрический заряд, перенесенный в течение ВПСТ. Это, в свою очередь, уменьшает уровень, до которого постсинаптическая мембрана разряжается за время ВПСТ, т. е. снижает уровень ВПСР до уровня, недостаточного для инициирования постсинаптического потенциала действия, вызывая таким образом блокаду синаптической передачи. Следовательно, нужно ожидать, что вещества, блокирующие открытый канал, должны также блокировать синаптическую передачу. Но до недавнего времени оставалось неясным, может ли служить этот механизм основой избирательного блокирования передачи.

Один из способов выяснения этого вопроса заключался в проверке, существует ли соответствие между каналоблокирующей и ганглиоблокирующей активностями среди группы наиболее избирательных блокаторов для одного определенного типа синаптических рецепторов. Кажущаяся константа скорости связывания блокатора с открытым каналом (k_{+B}^*) и константа сродства ($k_B^* = k_{+B}^*/k_{-B}^*$) могут быть использованы как количественные характеристики каналоблокирующей активности. Значения величин k_{+B}^* и k_{-B}^* можно определить из следующих уравнений (см. модель 1):

$$k_{+B}^* = [(\tau')^{-1} - \tau^{-1}] \cdot [B]^{-1} \quad (2)$$

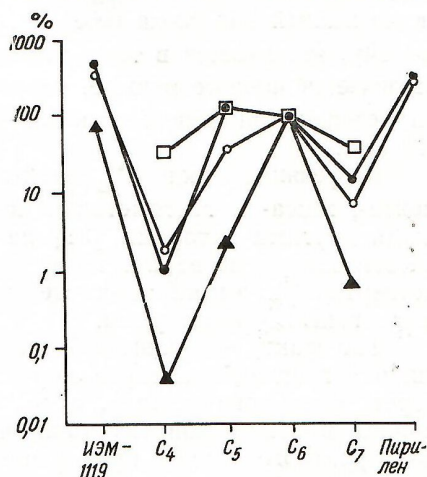
$$k_{-B}^* = \tau_B^{-1}, \quad (3)$$

где τ и τ^1 — постоянные времени спада ВПСТ соответственно при наличии блокатора и без него, τ_B — постоянная времени восстановления второго АХ-ответа при увеличении интервала между аппликациями АХ в двухимпульсном эксперименте, описанном выше. Равенство (2) справедливо, если $k_{+B}^* [B]$ намного больше, чем k_{-B}^* . Это условие имеет место, так как спад ВПСТ остается одноэкспоненциальным при наличии В.

На рис. 4. показано соотношение между величинами k_{+B}^* или k_{-B}^* и ганглиоблокирующей активностью для ряда соединений. Использо-

ванные соединения относятся к разным химическим классам: (симметричные (тетра-, пента-, гекса- и гептаметоний) и несимметричные (триметиламмоний, тетраметилен-изопропиламмоний, или ИЭМ-1 119) бис-четвертичные аммониевые соединения и моновалентный третичный амин—пирилен. Четыре из этих соединений являются избирательными ганглиоблокаторами (пента- и гексаметоний, ИЭМ-1 119 и пирилен). Тетра- и гептаметоний использовали для сравнения их действия с действием структурно сходных ИЭМ-1 119 и гексаметония. Показаны также характеристики действия тубокурарина, описанного выше. Чтобы оценить конкурентную¹ активность используемых веществ, изуча-

Рис. 4. Сравнение каналоблокирующего, конкурентного и ганглиоблокирующего действия ИЭМ-1 119, тетра- (C_4), пента- (C_5), гекса- (C_6), гептаметония (C_7) и пирилена, указанных на оси абсцисс. По оси ординат логарифмической шкалы отложены значения константы скорости связывания блокатора с открытым каналом k_{+B}^* ($\circ$), константы сродства блокатора к открытому каналу $k_{+B}^* = k_{-B}^*/k_{-B}$ (Δ), конкурентная активность ($\square$), определенная по угнетению амплитуды ВПСТ и ганглиоблокирующая активность ($\bullet$) в % таковой у C_6 . Значения этих величин взяты из табл. 1 [52].



лось их влияние на амплитуду ВПСТ. Сведения о ганглиоблокирующей активности этих веществ взяты из работ Skok и соавт. [52], а также Рапоп и соавт. [44] (показано в скобках), а для тубокурарина — из работы Bowman и соавт. [15]. Все значения величин, характеризующих конкурентную и ганглиоблокирующую активность, отнесены к таковым для гексаметония: ВПСТ записывались при -50 мВ и $35 \div 37^\circ\text{C}$.

Т а б л и ц а 2. Характеристики ганглиоблокаторов

Блокатор	k_{+B}^* $\times 10^6 \text{ моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$	k_{-B}^* , с^{-1}	Уменьшение амплитуды ВПСТ	Ганглиоблокирующая активность
ИЭМ-1 119	$27,00 \pm 16,10$ ($n=4$)	$0,22 \pm 0,06$ ($n=8$)	253 ± 158 ($n=4$)	470
Тетраметоний	$0,13 \pm 0,04$ ($n=3$)	$1,80 \pm 0,70$ ($n=3$)	33 ± 5 ($n=5$)	1 (2)
Пентаметоний	$2,60 \pm 0,45$ ($n=7$)	$0,62 \pm 0,14$ ($n=4$)	115 ± 8 ($n=4$)	140 (80)
Гексаметоний	$7,30 \pm 2,10$ ($n=6$)	$0,06 \pm 0,01$ ($n=5$)	100 ± 17 ($n=6$)	100 (100)
Гептаметоний	$0,56 \pm 0,16$ ($n=4$)	$0,52 \pm 0,09$ ($n=6$)	39 ± 5 ($n=4$)	15 (10)
Пирилен	$16,67 \pm 6,60$ ($n=3$)	—	810	280
Тубокурарин	2,0	—	927 ± 27 ($n=11$)	537

Следует отметить, что потенциалозависимость уменьшения амплитуды ВПСТ заметно отличается для разных соединений. Гиперполяризация, соответствующая e -кратному увеличению эффекта, находится в пределах $219 \div 264$ мВ для ИЭМ-1 119, тетра- и пентаметония, состав-

¹ Термин «конкурентный» здесь использован условно, лишь как противопоставление термину «каналоблокирующий», так как влияние антагонистов на кривую доза — эффект для агониста, используемое обычно для доказательства конкурентности действия антагониста, не исследовано.

ляет 61 мВ для гексаметония и 52 мВ для гептаметония [52]. Это может означать, что первые три соединения уменьшают амплитуду ВПСТ по классическому конкурентному механизму, тогда как остальные два осуществляют описанное выше блокирование закрытого канала. Для других соединений, показанных в табл. 2 и на рис. 4, потенциалозависимость амплитуды ВПСТ не была изучена детально.

Как видно из табл. 2 и рис. 4, наблюдается корреляция ганглиоблокирующей активности с $k_{+В}^*$, но не с $k_{В}^*$. Таким образом, $k_{-В}^*$ оказывается менее важной для блока передачи, чем $k_{+В}^*$. Главная причина этого, по-видимому, заключается в том, что значение $k_{-В}^*$ для разных антагонистов различается намного меньше, чем значение $k_{+В}^*$, что сказывается на скорости реакции при использованных частотах преганглионарной стимуляции (10 с^{-1}).

Корреляция между $k_{+В}^*$ и ганглиоблокирующей активностью для тетра-, пента-, гекса- и гептаметония подтверждается результатами, полученными другими авторами [31] на подчелюстном ганглии крысы. Однако эти авторы не нашли такой корреляции для длинноцепочечных бис-четвертичных аммониевых соединений, которые являются неселективными ганглиоблокаторами.

Тот факт, что ганглиоблокирующая активность некоторых селективных ганглиоблокаторов коррелирует с их активностью как блокаторов открытого канала, и то, что для блокирования ими каналов нужны меньшие концентрации, чем концентрации, необходимые для конкурентного блока, предполагает, что избирательное блокирование передачи обусловливается химической чувствительностью открытых каналов, а не мест, открывающих каналы («узнающий центр»). Этот механизм работает параллельно с другим (конкурентным) блокирующим механизмом в случае концентраций, более высоких, чем необходимые для чистого блокирования открытых каналов, причем одни ганглиоблокаторы могут проявлять смешанную активность (гексаметоний), тогда как другие проявляют чисто конкурентную активность (триметафан, см. работу Ascher и соавт. [10] и неопубликованные результаты наблюдений Бобрышева и Скока).

Блокирование открытых каналов в других синапсах. Возникает вопрос, можно ли наблюдать блок открытых каналов в других, не вегетативных, синапсах, и может ли он определять избирательность блокирования других видов синаптической передачи.

Хотя влияние тубокурарина, избирательного блокатора нервно-мышечной передачи в скелетных мышцах, на концевую пластинку является смешанным (конкурентным и канальным) при концентрации, меньшей $4 \cdot 10^{-7}$ моль/л, доминирует в его влиянии конкурентный механизм [20, 23]. Стероидные анестетики, барбитураты и антималярийные препараты вызывают здесь блокирование открытого канала, но их блокирующее влияние наблюдается лишь при сравнительно высоких концентрациях и не является избирательным [4, 5, 29].

В противоположность нервно-мышечной передаче у позвоночных никотиновая холинэргическая интернейронная и нервно-мышечная передача у беспозвоночных может избирательно блокироваться блоком открытых каналов. Гексаметоний — избирательный блокатор одного типа, а тубокурарин — другого типа интернейронной передачи у моллюсков, причем, блокирует открытый канал [8, 9]. Такой же механизм обнаружен при действии хлоризондамина, пемпидина, мекамиламина и декаметония в нервно-мышечной передаче у речного рака [38, 39].

Глутаматные рецепторы в нервно-мышечном соединении насекомых могут избирательно блокироваться δ -филантотоксином [19] и крупными производными пентаметония [1], сильными блокаторами открытого канала. Тот же механизм предполагается для действия пикротоксина в ГАМК-рецепторах, стрихнина в глициновых рецепторах и нембутала в глутаматных рецепторах нейронов культуры спинного

мозга млекопитающих [12], также как и для апаминового блока холинэргической и неадренэргической передачи в гладких мышцах [3, 11].

Таким образом, блокирование открытого канала может проявляться в разных типах синапсов, но вклад такого блокирования в избирательное блокирование синаптической передачи заметно отличается для разных синапсов. Причина такой вариабельности еще не ясна. С одной стороны, каналы концевой пластинки, которые меньше всего подвергаются блокированию в открытом состоянии, имеют самое короткое время жизни. Это время, определенное как постоянная времени спада тока концевой пластинки (ТКП), составляет для мышцы 0,3 мс при 39 °C и 1,0 мс при 23 °C (поддерживаемый потенциал мембраны составляет -65 — $+80$ мВ [27], а для лягушки — около 1,0 мс [20]. Это намного меньше, чем значения времени жизни для каналов, где блокирование открытого состояния более эффективно (см. ниже). С другой стороны, каналы, соответствующие быстрому компоненту спада ВПСТ в парасимпатическом ганглии крысы (6,2 мс при -80 мВ и 30 °C), блокируются гексаметонием с более высокой $k^*_{+в}$ ($17,9 \times 10^6$ моль $^{-1} \cdot$ с $^{-1}$), чем соответствующие медленному компоненту (20,0 мс), для которых $k^*_{+в}$ составляет $10,3 \cdot 10^6$ моль $^{-1} \cdot$ с $^{-1}$ [31]. Для гексаметония значение $k^*_{+в}$ в симпатическом ганглии кролика ($7,3 \times 10^6$ моль $^{-1} \cdot$ с $^{-1}$ при -80 мВ и 34–37 °C [52]) — такое же, как и в ганглии моллюска ($7,5 \cdot 10^6$ моль $^{-1} \cdot$ с $^{-1}$ при -80 мВ и 12 °C [9]), хотя среднее время жизни, измеренное в тех же условиях, что и соответствующие $k^*_{+в}$, в первом случае существенно короче ($4,5 \text{ мс} \pm 5,0 \text{ мс}$ [25]), чем во втором (27 мс [8]). Эти результаты предполагают, что хотя меньшая чувствительность открытых каналов к блокирующему веществу может быть в какой-то мере связана с временем жизни короткоживущих каналов ($0,3 \text{ мс} \pm 1,0 \text{ мс}$) при длительном времени жизни такая связь не наблюдается.

Тот факт, что АХ- и глутаматуправляемые каналы, проницаемые для ионов калия и натрия, могут избирательно блокироваться различными соединениями, предполагает, что чувствительность открытых каналов к блокаторам не связана с их ионной избирательностью.

Интересен вопрос, какое значение имеет место связывания блокаторов открытого канала для нормальной работы канала. Одна возможность, объясняющая значение места связывания, заключается в том, что это место связывает в обычных условиях двухвалентные ионы, что согласуется с гипотезой о том, что время нахождения канала в открытом состоянии в естественных условиях определяется их средством к двухвалентным проникающим ионам [8, 40]. Несомненна существенная роль кальция в функционировании никотиновых холинорецепторов. Каждая молекула холинорецептора в естественных условиях связывает ионы кальция и выделяет их при взаимодействии с АХ [17, 28]. Определенные места в молекуле холинорецептора по строению подобны кальцийсвязывающим местам в других белках, и эти места перекрываются с местами, связывающими избирательные блокаторы холинорецепторов [50]. Ca^{2+} -связывающие места обнаружены в ионных каналах холинорецепторов нейронов моллюсков [18, 53].

Кажущееся время жизни каналов увеличивается при увеличении наружной концентрации Ca^{2+} ($[\text{Ca}]_н$) в каналах холинорецепторов, которые блокируются при действии гексаметония (нейроны вегетативного ганглия и ганглия моллюсков [41, 45]), и не подвержено влиянию $[\text{Ca}]_н$ в каналах холинорецепторов концевой пластинки, которые нечувствительны к гексаметонию [16, 36]. В симпатическом ганглии кролика значение $k^*_{+в}$ для гексаметония сильно уменьшается при увеличении $[\text{Ca}]_н$ [2]. Эти данные предполагают, что избирательные блокаторы открытого канала в АХР могут связываться с местом которое в естественных условиях связывает ионы кальция. Места, связывающие ионы кальция, обнаружены и в открытых каналах глутаматного рецептора [42, 43].

Другая возможность, объясняющая значение мест связывания избирательных блокаторов в открытом канале, заключается в том, что эти места в естественных условиях связывает передатчик, управляющий каналом. Блокирующее действие АХ на открытый канал холинорецептора наблюдалось в ряде экспериментов [22, 46, 49]. Концентрация АХ, необходимая для такого действия ($1 \cdot 10^{-4}$ моль/л [21]), близка к таковой в синаптической щели [37].

V. I. Skok

BLOCKADE OF THE OPEN IONIC CHANNEL AS A MECHANISM FOR SELECTIVE BLOCKADE OF SYNAPTIC TRANSMISSION

Hexamethonium, a selective sympathetic ganglion blocking agent, unlike tubocurarine, a nonselective blocking agent in ganglia, at its lowest effective concentration blocked only the open channel of nicotinic acetylcholine (ACh) receptors in the sympathetic ganglion neurons, without traits of competitive blocking. This conclusion follows from the influence of hexamethonium on the mean apparent channel lifetime determined from the excitatory postsynaptic current decay and from analysis of ACh-noise as well as from the influence of heptamethonium on the activity of single ACh-channel. The rate constant for binding of selective ganglion blocking agents with the open channel correlates with their activity as transmission blocking agents. Thus, selective ganglionic blockade may be induced by blocking of the open channel rather than by the competitive blocking. Similar mechanism of selective blocking has been found in some other synapses, both in cholinergic, and non-cholinergic. It is suggested that the site in the open channel which binds selective blocking agents may normally bind calcium ions or acetylcholine.

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

1. Магазаник Л. Г., Антонов С. М., Гмиро В. Е. Механизмы активации и блокирования постсинаптической мембраны, чувствительной к глутамату // Биол. мембраны.— 1984.— 1, № 2.— С. 130—140.
2. Селянко А. А., Деркач В. А., Скок В. И. Влияние ионов Ca^{2+} на каналоблокирующее действие гексаметония в симпатическом ганглии // Докл. АН СССР.— 1985.— 284, № 1.— С. 225—228.
3. Владимирова И. А., Шуба М. Ф. Влияние стрихнина, гидрастина и апамина на синаптическую передачу в гладкомышечных клетках // Нейрофизиология.— 1978.— 10, № 3.— С. 295—299.
4. Adams P. R. Drug blockade of open end—plate channels // J. Physiol.— 1976.— 260, N 3.— P. 531—552.
5. Adams P. R., Feltz A. Quinacrine (mepacrine) action at frog end—plate // Ibid.— 1980.— 306, Sept.— P. 261—281.
6. Armstrong C. Interaction of tetraethylammonium ion derivatives with the potassium of giant axons // J. Gen. Physiol.— 1971.— 58, N 3.— P. 413—437.
7. Armstrong C., Hille B. The inner quaternary ammonium ion receptor in potassium channels of the node of Ranvier // Ibid.— 1972.— 59, N 4.— P. 388—400.
8. Ascher P., Marty A., Neild T. O. Life-time and elementary conductance of the channels mediating the excitatory effects of acetylcholine in *Aplysia* neurones // J. Physiol.— 1978a.— 278, N 1.— P. 177—206.
9. Ascher P., Marty A., Neild T. O. The mode of action of antagonists on the excitatory response to acetylcholine in *Aplysia* neurones // Ibid.— 1978b.— 278, N 2.— P. 207—235.
10. Ascher P., Large W. A., Rang H. P. Studies of the mechanism of action of acetylcholine antagonists on rat parasympathetic ganglion cells // Ibid.— 1979.— 295, Oct.— P. 139—170.
11. Banks B. E. C., Brown C., Burgess G. M. et al. Apamin blocks certain neurotransmitter-induced increases in potassium permeability // Nature.— 1979.— 282, N 4.— P. 415—417.
12. Barker J. L. CNS depressants: effects on post-synaptic pharmacology // Brain Res.— 1975.— 92, N 1.— P. 35—55.
13. Barlow R. B., Zoller A. Some effects of long chain polymethylene bis-onium salts on junctional transmission in the peripheral nervous system // Brit. J. Pharmacol.— 1964.— 23, N 2.— P. 131—150.
14. Blackman J. C. Dependence on membrane potential of the blocking action of hexamethonium at sympathetic ganglionic synapse // Proc. Univ. Otago Med. Sch.— 1970.— 48, N 1.— P. 4—5.

15. Bowman W. C., Webb S. W. Neuromuscular blocking and ganglion blocking activities of some acetylcholine antagonists in the cat // *J. Pharmac. Pharmacol.*—1972.—24, N 6.—P. 762—772.
16. Bregestovski P. D., Miledi R., Parker I. Calcium conductance of acetylcholine-induced endplate channels // *Nature*.—1979.—279, N 5.—P. 638—639.
17. Chang H. W., Neumann E. Dynamic properties of isolated acetylcholine receptor and chemical mediators. Kinetic studies by acetylcholine binding // *Proc. Natl. Sci. USA*.—1976.—73, N 3.—P. 3364—3368.
18. Chemeris N. K., Kazachenko V. N., Kistov A. N., Kurchikov A. L. Inhibition of acetylcholine responses by intracellular calcium in lumnaea stagnalis neurones // *J. Physiol.*—1982.—323, Febr.—P. 1—19.
19. Clark R. B., Donaldson R. L., Gratton K. A. F. et al. Block of locust muscle glutamate receptors by —philanthoxin occurs after receptor activations // *Brain Res.*—1982.—241, N 1.—P. 105—114.
20. Colquhoun D. The link between drug binding and response: theories and observations // The receptors. A comprehensive treatise.—New York: Plenum press.—1979.—1.—P. 93—141.
21. Colquhoun D., Ogden D. C. Evidence from single-channel recording of channel block by nicotinic agonists at the frog neuromuscular junction // *J. Physiol.*—1984.—353, Aug.—P. 90—91.
22. Colquhoun D., Sakmann B. Bursts of openings in transmitter-activated ion channels // Single-channel recording.—New York: Plenum press.—1983.—P. 345—364.
23. Colquhoun D., Sheridan R. E. The effect of tubocurarine competition on the kinetics of agonist action on the nicotinic receptor // *Brit. J. Pharmacol.*—1982.—75, N 1.—P. 77—86.
24. Connor E. A., Neel D. S., Parsons R. L. Influence of the extracellular ionic environment on ganglionic fast excitatory postsynaptic currents // *Brain Res.*—1985.—339, N 1.—P. 227—235.
25. Derkach V. A., Selyanko A. A., Skok V. I. Acetylcholine-induced current fluctuations and fast excitatory post-synaptic currents in rabbit sympathetic neurones // *J. Physiol.*—1983.—336, N 4.—P. 511—526.
26. Derkach V. A., North R. A., Selyanko A. A., Skok V. I. Single channels activated by acetylcholine in rat superior cervical ganglion // In press.
27. Dreyer F., Müller K. D., Peper K., Sterz R. The m. omohyoideus of the mouse as a convenient mammalian muscle preparation. A study of junctional and extrajunctional acetylcholine receptors by noise analysis and cooperativity // *Pflügers Arch.*—1976.—367, N 1.—P. 115—122.
28. Eldefrawi M. E., Eldefrawi A. T., Penfield L. A., et al. Binding of calcium and zinc to the acetylcholine receptor purified from Torpedo californica // *Life Sci.*—1975.—16, N 3.—P. 925—936.
29. Gillo B., Lass Y. The mechanism of steroid anaesthetic (alphaxalone) block of acetylcholine-induced ionic currents // *Brit. J. Pharmacol.*—1984.—82, N 3.—P. 783—789.
30. Grob D. Neuromuscular blocking drugs // *Physiological pharmacology*.—New York: Acad. press.—1967.—P. 389—460.
31. Gurney A. M., Rang H. P. The channel-blocking action of methonium compounds on rat submandibular ganglion cells // *Brit. J. Pharmacol.*—1984.—82, N 4.—P. 623—642.
32. Guyton A. C., Reeder R. C. Quantitative studies on the autonomic actions of curare // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*—1950.—98, N 1.—P. 188—194.
33. Hamill O. P., Marty A., Neher E., et al. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches // *Pflügers Arch.*—1981.—391, N 1.—P. 85—100.
34. Hill B., Courtney K., Dum R. Rate and site of action of local anaesthetics in myelinated nerve fibres // *Molecular Mechanisms of Anaesthesia. Progress in Anesthesiology*.—New York, 1975, vol. 1.—P. 13—20.
35. Karlin A., Cox R., Kaldany R. R., et al. The arrangement and functions of the chains of the acetylcholine receptor of Torpedo electric tissue // *Molecular neurobiology cold spring harbor symposia on quantitative biology*.—New York, 1983, vol. 48.—P. 1—8.
36. Kuba K., Takeshita S. On the mechanism of calcium action on the acetylcholine receptor-channel complex at the frog end-plate membrane // *Jap. J. Physiol.*—1983.—33, N 6.—P. 931—944.
37. Kuffler S. W., Yoshikami D. The number transmitter molecules in a quantum: an estimate from ionophoretic application of acetylcholine at the neuromuscular synapse // *J. Physiol.*—1975.—251, N 2.—P. 465—484.
38. Lingle Ch. Blockade of cholinergic channels by chlorisondamine on a crustacean muscle // *Ibit.*—1983.—339, June.—P. 395—417.
39. Lingle Ch. Different types of blockade of crustacean acetylcholine-induced currents // *Ibit.*—P. 419—437.
40. Marchais D., Marty A. Interaction of permeant ions with channels activated by acetylcholine in Aplysia neurones // *Ibit.*—1979.—297, Dec.—P. 9—45.
41. Marty A. Action of calcium ions on acetylcholine-sensitive channels in Aplysia neurones // *Ibit.*—1980.—76, N 3.—P. 523—527.
42. Mayer M. L., Westbrook G. L., Guthrie P. B. Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurones // *Nature*.—1984.—309, N 2.—P. 261—263.
43. Nowak L., Bregestowski P., Ascher P. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones // *Ibit.*—307, N 3.—P. 462—465.
44. Paton W. D. M., Zaimis E. J. The pharmacological actions of polymethylammonium salts // *Brit. J. Pharmacol.*—1949.—4, N 2.—P. 381—400

45. Rang H. P. The characteristics of synaptic currents and responses to acetylcholine of rat submandibular ganglion cells // *J. Physiol.*—1981.—311, Febr.—P. 23—53.
46. Sakmann B., Patlak J., Neher E. Single acetylcholine-activated channels show burst-kinetics in presence of desensitizing concentrations of agonist // *Nature*.—1980.—286, N 1.—P. 71—73.
47. Selyanko A. A., Derkach V. A., Skok V. I. Effects of some ganglionblocking agents on fast excitatory postsynaptic currents in mammalian sympathetic ganglion neurones // *Adv. Physiol., Sci.*—4.—P. 329—342. *Physiology of Excitable Membranes* (ed. J. Salánki).
48. Selyanko A. A., Derkach V. A., Skok V. I. Voltage-dependent actions of short-chain polymethylene bis-trimethylammonium compounds on sympathetic ganglion neurone // *J. Auton. Nerv. System.*—1982.—6, N 1.—P. 13—21.
49. Sine S. M., Steinbach J. H. Agonists block currents through acetylcholine receptor channels // *Biophys. J.*—1984.—46, N 2.—P. 277—283.
50. Skok V. I. Channel-blocking mechanism ensures specific blockade of synaptic transmission // *Neuroscience*.—1985.—17, N 1.—P. 1—9.
51. Skok V. I., Selyanko A. A., Derkach V. A. Channel-blocking activity is a possible mechanism for a selective ganglionic blockade // *Pflügers Arc.*—1983.—398, N 1.—P. 169—171.
52. Skok V. I., Selyanko A. A., Derkach V. A., et al. The mechanisms of ganglion-blocking action of bisammonium compounds // *Neirofiziologiya*.—1984.—16, N 1.—P. 54—60.
53. Slater N. T., Carpenter D. O., Haas H. L., David J. A. Blocking kinetics at excitatory acetylcholine responses on *Aplysia* neurons // *Biophys. J.*—1984.—45, N 1.—P. 24—25.
54. Steinbach A. B. A kinetic model for the action of xylocaine on receptors for acetylcholine // *J. Gen. Physiol.*—1968.—52, N 1.—P. 162—180.
55. Strichartz G. The inhibition of sodium currents in myelinated nerve by quaternary derivatives of lidocaine // *Ibit.*—1973.—62, N 1.—P. 37—57.

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

Поступила 27.06.86

УДК 577.352.4:612.829:546.1

И. С. Магура

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИНАКТИВИРУЮЩИХСЯ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ СОМАТИЧЕСКОЙ МЕМБРАНЫ

В работах Д. С. Воронцова неоднократно подчеркивалась важность познания природы электрических потенциалов в живых клетках и их связи с жизненными процессами. Значительное место в исследованиях Д. С. Воронцова, посвященных изучению природы физического электротона, занимали вопросы о действии различных ионов на возбудимые ткани [1]. Эти исследования не менее важны и на современном уровне развития науки.

Данная работа резюмирует результаты наших исследований, направленных на выяснение взаимодействия ионов щелочных металлов с калиевыми каналами соматической мембраны и роли мембранного потенциала в этом взаимодействии.

Являясь структурной основой биологических мембран, липидный бислой — эффективный барьер на пути перемещения малых ионов из водной среды. Для переноса ионов калия в липидный матрикс мембраны, необходима энергия, приблизительно составляющая 250 кДж/моль. Однако энергетический барьер, который необходимо преодолеть ионам калия при прохождении через плазматическую мембрану нервного волокна, составляет лишь 20 кДж/моль.

Ионная проницаемость клеточных мембран обеспечивается ионными каналами, представляющими собой интегральные белки мембраны. Некоторые авторы функцию ионных каналов сопоставляют с функцией ферментов [16]. Для ионных каналов, также как и для ферментов, характерна специфичность (избирательность), феномен насыщения при росте концентрации субстрата (ионов), конкурентное подавление ана-