

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-

логами субстрата (ионами-блокаторами). Конформационные изменения каналов переводят их из закрытого состояния в открытое и наоборот. Эти переходы могут быть обусловлены изменением мембранного потенциала, связыванием с определенными химическими веществами и, возможно, специфическим фосфорилированием. Существенной особенностью каналов является высокая скорость переноса (по данным литературы, через различные типы каналов в секунду может проходить 10^6 — 10^9 ионов [16]). Как в основе избирательности, так и транспортирования ионов через каналы лежит взаимодействие ионов со структурами канала.

Значимая информация о свойствах калиевых каналов получена при изучении соотношения противоположно направленных потоков ионов калия через мембрану [14]. Согласно расчетам Юсинга [25] при независимом перемещении ионов через мембрану соотношение оттока (M_e) и притока (M_i) данного вида ионов через мембрану описывается следующим образом:

$$\frac{M_e}{M_i} = \frac{[K]_i}{[K]_o} \exp(E_m F / R T) = \exp[(E_m - E_K) F / R T], \quad (1)$$

где $[K]_i$ и $[K]_o$ — внутриклеточная и внеклеточная активности ионов калия соответственно, E_m — мембранный потенциал; R , T и F — имеют обычное значение, $E_K = (RT/F) \ln([K]_o/[K]_i)$.

Hodgkin и Keynes обнаружили, что отток калия из аксона каракатицы подавляется наружными ионами калия. Это свидетельствует о том, что независимого перемещения ионов калия через мембрану не происходит. Соотношение противоположно направленных потоков ионов калия описывается уравнением

$$\frac{M_e}{M_i} = \exp(E_m - E_K) n F / R T. \quad (2)$$

По данным Hodgkin и Keynes, n для аксона каракатицы составляет 2,5 [14]. При анализе результатов этих исследований был сделан вывод, что калиевый канал представляет собой длинную пору, в которой ионы калия движутся в один ряд и не могут обходить друг друга. Уравнение Ходжкина — Кейнса затем было использовано для описания соотношения потоков ионов рубидия через ионные каналы, сформированные грамицидином А [23]. Затем было показано, что величина n в уравнении Ходжкина — Кейнса является функцией мембранного потенциала и, возможно, внутриклеточной концентрации калия [8].

При изучении калиевых каналов нервных волокон на основании данных об их избирательности и блокировании различными ионами высказаны предположения о структуре калиевого канала. Предполагают, что он является порой, внутреннее устье которой расширено и характеризуется низкой избирательностью. Проникновение ионов во внутреннее устье происходит тогда, когда канал открыт. Затем следует узкая часть канала, в которой располагается селективный фильтр [6, 16]. Ионы таких веществ, как тетраэтиламмоний (ТЭА) и его производные, а также ионы бария, лития, натрия и цезия, проникая во внутреннее устье калиевого канала, блокируют его [6, 12, 16]. Во многих случаях блокирующее действие ионов зависит от мембранного потенциала, что рассматривается как доказательство их взаимодействия со структурами, расположенными в глубине канала.

Ионный канал находится в электрическом поле, создаваемом мембранным потенциалом. Если место связывания блокирующего иона находится внутри канала, то вероятность блокирования можно рассчитать, используя больцмановский принцип распределения. Для количественного описания потенциалозависимого блокирования ионных каналов используют модель Woodhull [26]. При этом предполагают,

что внутри канала имеется локус S, который связывает блокирующий ион (B^+)



где k_1 и k_{-1} — константы скорости.

Реакция характеризуется потенциалозависимой константой диссоциации K_D

$$K_D(E) = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[S][B^+]}{[B^+S]}. \quad (4)$$

Соотношение числа проводящих (n_0) и заблокированных (n_B) каналов выражается формулой

$$\frac{n_0}{n_B} = \frac{k_{-1}}{k_1[B^+]}. \quad (5)$$

Вероятность пребывания каналов в незаблокированном состоянии будет определяться

$$P_0 = \frac{n_0}{n_0 + n_B}. \quad (6)$$

Сочетая выражения (4), (5) и (6), получаем

$$P_0 = \left[1 + \frac{[B^+]}{K_D(E)} \right]^{-1}. \quad (7)$$

Если S расположен таким образом, что только часть мембранного потенциала (σ) оказывает влияние на B^+ , находящийся возле S, то константа диссоциации будет зависеть от мембранного потенциала следующим образом:

$$K_D(E) = K_D(0) e^{-z\sigma F E_M / RT}, \quad (8)$$

где $K_D(0)$ константа диссоциации при отсутствии трансмембранной разности потенциалов.

Учитывая уравнение (8), уравнение (7) можно записать

$$P_0 = \left[1 + \frac{[B^+]}{K_D(0)} e^{z\sigma F E_M / RT} \right]^{-1}. \quad (9)$$

Измеряя ионные токи без блокирующих ионов и при различной их концентрации рассчитывают $K_D(E)$ и $z\sigma$.

Рассмотренная модель, согласно которой с каналом взаимодействует один блокирующий ион, не всегда согласуется с результатами исследований. При изучении блокирования входящих калиевых токов в аксоне кальмара внеклеточными ионами цезия произведение $z\sigma$ составляло 1,3 [7]. Это могло быть в случае, если в калиевом канале число блокирующих ионов превышало единицу. При изучении блокирования аномально выпрямляющих калиевых каналов яйцеклеток морской звезды ионами цезия, находящимися в наружном растворе, $z\sigma$ составляло 1,4—1,5 [11]. Возможность пребывания в калиевом канале нескольких блокирующих ионов согласуется с представлением о том, что калиевый канал есть пора, в которой одновременно могут находиться несколько ионов и что их перемещение в канале происходит в один ряд [13, 14].

Свойства калиевых каналов описывают, более адекватно используя теорию абсолютных скоростей реакций. Такой способ моделирования физико-химических характеристик ионных каналов в настоящее время широко используют [13]. В этом случае адекватный подбор энергетического профиля иона в канале позволяет произвести детальный физико-химический анализ экспериментальных данных. В част-

ности, при моделировании свойств калиевых каналов описывают не только блокирование каналов ионами, но и такой феномен, как зависимость блокирующего действия внутриклеточных катионов от наружной концентрации ионов калия [13], зависимость «кажущегося электрического расстояния» (или $z\sigma$) от способности блокирующего иона проходить через канал [9].

Задачей наших исследований было изучение свойств инактивирующихся калиевых каналов соматической мембраны нейронов моллюсков. Как указывалось ранее нейроны моллюсков — весьма перспективная модель для изучения свойств тела нервной клетки.

В соматической мембране нейронов моллюсков обнаружено несколько разновидностей калиевых каналов: каналы задержанного калиевого тока, «быстрые» калиевые каналы [2, 3, 15, 17, 21] и кальцийактивируемые калиевые каналы [20]. Существенной особенностью каналов задержанного калиевого тока и «быстрых» калиевых каналов является способность относительно быстро инактивироваться. Для каналов задержанного калиевого тока характерен феномен «кумулятивной» инактивации, не свойственный другим видам электроуправляемых каналов. «Кумулятивная» инактивация играет важную роль в изменениях механизмов генерации потенциалов действия на протяжении ритмического разряда [4].

Методика

С целью получения информации о свойствах открытых калиевых каналов соматической мембраны нейронов моллюсков мы провели эксперименты по изучению их блокирования одновалентными катионами лития, натрия, цезия. Исследования проводили на неидентифицированных диализируемых нейронах виноградной улитки с использованием фиксации потенциала [18, 19]. Диализ позволял осуществлять контролируемые изменения внутриклеточной ионной среды. Для устранения входящего натриевого тока наружный раствор (рН-7,35) не содержал ионы натрия. В его состав входили следующие вещества (в миллимоль на литр): трис-Cl — 120; KCl — 4; $MgCl_2$ — 5; $CaCl_2$ — 7. Состав раствора для диализа (рН-7,3) в тех же единицах — KF — 75; трис-Cl — 50; трис-F — 10. Исследуемые ионы вводили внутрь нейрона эквивалентным замещением в растворе для диализа трис-ионов. Входящий кальциевый ток блокировался ионами фтора, находящимися в растворе для диализа [2]. При всех регистрациях осуществляли линейное вычитание тока утечки. Использование дополнительного стеклянного внутриклеточного электрода для измерения мембранного потенциала значительно повышало точность метода. Разделение инактивирующегося и неинактивирующегося калиевых токов проводили выбором поддерживаемого потенциала.

Результаты и их обсуждение

Согласно данным литературы [22], неинактивирующиеся каналы задержанного калиевого тока диализируемых нейронов умеренно проницаемы для ионов цезия, которые являются эффективными блокаторами калиевых каналов многих возбудимых мембран. По предварительным данным, полученным в нашей лаборатории В. В. Рыбальченко и В. Е. Дегтярем, для инактивирующейся фракции каналов задержанного калиевого тока характерна следующая последовательность избирательности: $R_K : R_{Rb} : R_{NH_4} : R_{Cs} = 1 : 0,85 : 0,2 : 0,15$. Обладая способностью проходить через калиевые каналы, ионы цезия вызывают также и блокирование калиевых каналов как при внутриклеточном введении, так и при добавлении их в наружный раствор.

Мы изучали преимущественно инактивирующиеся калиевые каналы. С целью полного устранения их инактивации поддерживаемый потенциал составлял —100 мВ [19]. При последующих деполяризующих смещениях мембранного потенциала регистрировали инактивирующиеся калиевые токи. Была использована ступенчатая деполяризация мембраны. Во время первой ступени мембранный потенциал смещали до +20 мВ. Продолжительность первой ступени составляла 5–7 мс. В течение этого времени выходящий ток достигал максимума. После-

дующее смещение мембранного потенциала производили с целью регистрации «хвостов» тока, которую в свою очередь, использовали для построения мгновенной вольтамперной характеристики и изучения свойств открытых ионных каналов. Чаще всего мгновенные вольтамперные характеристики были линейны в пределах от -80 до $+90$ мВ и пересекали ось потенциалов в точке, приблизительно соответствующей равновесному потенциалу для ионов калия.

При введении в нейрон ионов характер мгновенной вольтамперной характеристики изменялся (рис. 1). Введение ионов натрия внутрь клетки вызывает потенциалозависимое блокирование выходящего тока.

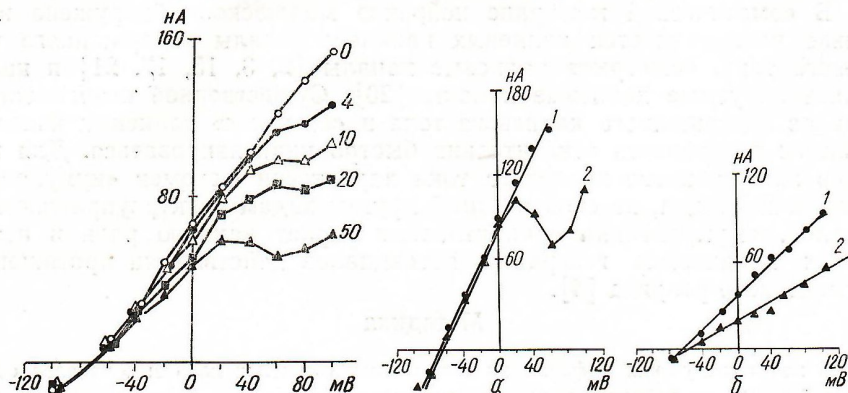


Рис. 1. Мгновенные вольтамперные характеристики инактивирующегося калиевого тока при различных внутриклеточных концентрациях натрия.

Цифра, указанная возле каждой кривой — концентрация внутриклеточного натрия, в миллимоль на литр.

Рис. 2. Мгновенные вольтамперные характеристики одного и того же нейрона для инактивирующихся (а) и неактивирующихся (б) калиевых токов:

1 — внутриклеточный раствор не содержит ионы натрия; 2 — внутри клетки введены ионы натрия (50 ммоль/л).

Когда внутриклеточная концентрация ионов натрия составляла 20 ммоль/л, эффективная валентность $z\sigma$, рассчитанная по модели Woodhull, составляла 0,55. Повышение внутриклеточной концентрации ионов натрия до 50 ммоль/л привело к значительному подавлению выходящего тока. Эффективная валентность увеличилась до 0,7. Константа диссоциации составляла приблизительно 170 ммоль/л. На мгновенной характеристике в интервале 20—60 мВ возникала область отрицательного наклона. После достижения минимума выходящий ток возрастал вновь. Увеличение выходящего тока при значительных положительных смещениях мембранного потенциала рассматривают как следствие преодоления ионами натрия энергетических барьеров калиевого канала [10].

Эффективную валентность используют для оценки глубины проникновения блокирующего иона в канал. Ее увеличение при увеличении концентрации ионов натрия внутри клетки может быть свидетельством наличия нескольких мест связывания ионов натрия внутри калиевого канала. В этом случае повышение внутриклеточной концентрации ионов натрия способствует более полному заполнению ионами натрия возможных мест его связывания в канале.

В некоторых нейронах потенциалозависимость блокирования калиевых каналов ионами натрия выражена более четко и рассчитанная по модели Woodhull эффективная валентность значительно превышала единицу. На рис. 2 приведен пример мгновенной вольтамперной характеристики такого нейрона при внутриклеточной концентрации ионов натрия, составляющей 50 ммоль/л. В этом случае $z\sigma$ составляла 1,8. Это также свидетельствует о возможности проникновения в калиевый канал нескольких ионов натрия. Для данного примера константа диссоциации $K_D(0)$ достигала 1800 ммоль/л.

На этой же клетке получены данные, касающиеся блокирования неинактивирующихся каналов ионами натрия. Неинактивирующийся калиевый ток был зарегистрирован при поддерживаемом мембранном потенциале -40 мВ. Введение 50 ммоль/л ионов натрия и в этом случае вызывало подавление калиевого тока. Потенциалозависимость была незначительна и σ составляла $0,28$, а $K_D(0) - 47$ ммоль/л. Столь различный характер взаимодействия ионов натрия с инактивирующимися и неинактивирующимися калиевыми каналами, несомненно, свидетельствует о различной структуре этих двух разновидностей

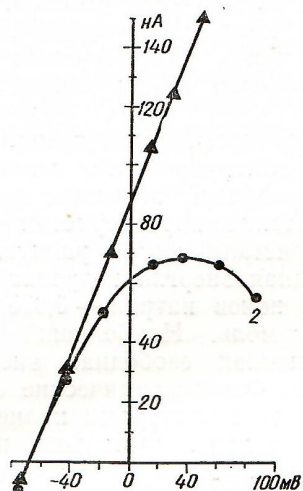


Рис. 3. Мгновенные вольтамперные характеристики:

1 — до введения внутрь клетки ионов лития; 2 — после их введения (50 ммоль/л).

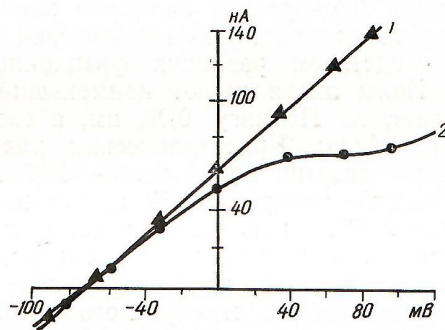


Рис. 4. Мгновенные вольтамперные характеристики инактивирующегося калиевого тока:

1 — до введения внутрь клетки ионов цезия; 2 — после их введения (50 ммоль/л).

калиевых каналов. Трудно исключить возможность того, что структура проводящей части калиевого канала зависит от мембранного потенциала.

Изменение напряженности электрического поля может вызвать определенные перестройки заряженных компонентов, или диполей, входящих в состав белковой молекулы, формирующей ионный канал. Это в свою очередь вызывает изменение характера взаимодействия иона с каналом.

Существенной особенностью калиевых каналов нервных волокон головоногих моллюсков является отсутствие независимого перемещения ионов калия через канал [8, 14]. В наших экспериментах изменение наружной концентрации ионов калия в пределах от 4 до 20 ммоль/л вызывало также изменение мгновенных вольтамперных характеристик, которые можно было рассчитать теоретически, используя теорию постоянного поля Гольдмана—Ходжкина—Катца. Как известно, теория постоянного поля предполагает наличие независимого перемещения ионов.

При изучении взаимодействия щелочных металлов с калиевыми каналами мы использовали в качестве блокаторов также и ионы лития. В этом случае блокирование калиевых каналов также характеризовалось четкой выраженной потенциалозависимостью. Мгновенная вольтамперная характеристика при введении внутрь клетки 50 ммоль/л лития имела четко выраженный отрицательный наклон (рис. 3). В этом случае весьма значительные положительные смещения мембранного потенциала не вызывали вторичного увеличения выходящего тока. Это рассматривается как следствие того, что ионы лития, в отличие от натрия, не могут пройти через калиевый канал даже при значительных положительных смещениях мембранного потенциала. Эф-

фективная валентность, рассчитанная для данного случая, составляла 0,5, а $K_D(0)$ — 250 ммоль/л.

Ионы цезия, введенные внутрь нервной клетки, также вызывали потенциалозависимое подавление калиевого тока. Адекватная количественная оценка взаимодействия ионов цезия с калиевым каналом затруднена вследствие умеренной их проницаемости для этих ионов. На рис. 4 продемонстрировано действие ионов цезия на калиевый ток. В этом случае отрицательный наклон мгновенной вольтамперной характеристики фактически отсутствует. Эффективная валентность составляет 0,57, а константа диссоциации $K_D(0)$ — 305 ммоль/л. При прохождении блокирующих ионов через каналы потенциалозависимость блокирования выражена менее четко. Рассчитанное значение $z\sigma$ плохо отражает глубину проникновения блокирующего иона в канал [9].

Таким образом, при сопоставлении способности ионов лития, натрия, цезия блокировать калиевые каналы обнаруживаются заметные отличия характера их взаимодействия с каналами, вероятно, являющиеся следствием различия физико-химических характеристик этих ионов. Ионы лития имеют наименьший кристаллический радиус. Он составляет, по Полингу 0,06, нм, а свободная энергия гидратации — 114,6 ккал/моль. Кристаллический радиус ионов натрия — 0,095 нм, свободная энергия гидратации — 89,7 ккал/моль. Наибольший кристаллический радиус (0,169 нм) и наименьшая свободная энергия гидратации (60,8 ккал/моль) у ионов цезия. Физико-химические свойства ионов лития таковы, что, связываясь со структурами калиевого канала, они не могут пройти через него даже при значительных положительных сдвигах мембранного потенциала. Предполагается, что место их связывания находится ближе к внутреннему устью канала, чем место связывания ионов натрия.

В отличие от калиевых каналов нервных волокон инактивирующиеся калиевые каналы соматической мембраны нейронов моллюсков не столь эффективно блокируются ионами цезия. Характер их взаимодействия с каналами таков, что существует умеренная проницаемость для этих ионов. Небольшое значение $z\sigma$ не отражает глубину проникновения и связывания ионов цезия каналом.

Различный характер взаимодействия ионов натрия с инактивирующимися и неинактивируемыми калиевыми каналами, проявляющийся в существенных различиях эффективной валентности блокирующих ионов и константы диссоциации — $K_D(0)$, свидетельствует о различной молекулярной организации этих двух видов ионных каналов. Эти различия могут быть обусловлены тем, что измерения проводили при различных значениях мембранного потенциала. Трудно исключить возможность изменения структуры заряженных компонентов ионного канала при изменении напряженности электрического поля.

Значимую информацию о свойствах воротных механизмов ионных каналов дают исследования, в которых изучали зависимость их свойств от температуры [18]. Для количественного описания и анализа результатов такого рода исследований удобно использовать формальный метод Ходжкина—Хаксли в сочетании с термодинамическим (энергетическим) подходом [5, 18]. При изучении влияния температуры на свойства воротных механизмов калиевых каналов соматической мембраны нейронов моллюсков мы допускали, что переход каналов из закрытого состояния в открытое и наоборот сопряжен с внутримембранным перемещением гипотетических заряженных «воротных» частиц. Сделаны расчеты как эффективной валентности «воротных» частиц, так и изменения их свободной энергии при переходе из одной позиции в другую при различных значениях мембранного потенциала. Эффективная валентность «воротных» частиц быстрых калиевых каналов при комнатной температуре варьировала в наших экспериментах в пределах от 2 до 3. Мембранный потенциал (E_0), при котором «воротные» частицы равномерно распределены между двумя позициями, при 20 °C состав-

лял —58 мВ. При охлаждении до 10 °С эффективная валентность «воротных» частиц снижалась приблизительно в 1,5 раза, а E_0 составляла около —50 мВ. Переход «воротного» заряда из одной позиции в другую рассматривается как преодоление только одного энергетического барьера, лимитирующего скорость реакции. В расчетах использовали модель, основанную на теории Эйринга. Данные о зависимости коэффициентов скоростей от температуры были взяты для расчета энтальпии и энтропии активации. Влияние изменений температуры на постоянную времени активации калиевых каналов (t_n) существенно отличается при низких и высоких значениях температуры. При температуре ниже 8 °С Q_{10} для t_n составляет приблизительно 7, а при более высоких значениях температуры — около 3. Столь существенные различия свойств «воротных» механизмов калиевых каналов при разных значениях температуры могут быть обусловлены изменениями состояния липидного окружения каналов.

I. S. Magura

PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES OF TRANSIENT POTASSIUM CURRENT CHANNELS IN THE SOMATIC MEMBRANE

The block of snail neuron transient potassium channels by internal Li^+ , Na^+ and Cs^+ was studied using voltage-clamp and internal perfused techniques. The voltage dependence of the block was found. The effective valence of blocking ions could exceed unity. This findings would require additional binding site within the potassium channel permeation pathway.

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

1. Воронцов Д. С. Общая электрофизиология.— М.: Медгиз, 1961.— 487 с.
2. Костюк П. Г., Крыштал О. А. Механизмы электрической возбудимости нервной клетки.— М.: Наука, 1981.— 204 с.
3. Магура И. С. Проблемы электрической возбудимости нейрональной мембраны.— Киев: Наукова думка, 1981.— 206 с.
4. Магура И. С., Вихрева Л. А. Электроуправляемые калиевые каналы соматической мембраны нейронов моллюсков // Нейрофизиология.— 1984.— 16, № 3.— С. 296—301.
5. Магура И. С., Преварская Н. Б., Дуб В. А. Термодинамические характеристики воротных механизмов быстрых калиевых каналов соматической мембраны нейронов моллюсков // Нейрофизиология.— 1983.— 15, № 6.— С. 563—570.
6. Armstrong C. M. Ionic pores, gates, and gating currents // Quart. Revs. Biophys.— 1975.— 7, N 2.— P. 179—210.
7. Adelman W. J., French R. J. Blocking of squid axon potassium channel by external caesium ions // J. Physiol.— 1978.— 276.— P. 13—25.
8. Begenisich T., De Weer P. Potassium flux ratio in voltage-clamped squid giant axons // J. Gen. Physiol.— 1980.— 76, N 1.— P. 83—98.
9. French R. J., Shoukimas J. J. An ion's view of the potassium channel // J. Gen. Physiol.— 1985.— 85, N 5.— P. 669—698.
10. French R. J., Wells J. B. Sodium ions as blocking agents and charge carriers in the potassium channel of the squid giant axon // Ibid.— 1977.— 70, N 5.— P. 707—724.
11. Hagiwara S., Miyazaki S., Rosenthal N. P. Potassium current and the effect of cesium on this current during anomalous rectification of the egg cell membrane of a starfish // Ibid.— 1976.— 67, N 6.— P. 621—638.
12. Hermann A., Gorman A. L. F. Blockade of voltage-dependent and Ca^{2+} -dependent K^+ current components by internal Ba^{2+} in molluscan pacemaker neurons // Experimentia.— 1979.— 229, N 2.— P. 229—231.
13. Hille B., Schwarz W. Potassium channels as multi-ion single-file pores // J. Gen. Physiol.— 1978.— 72, N 3.— P. 409—442.
14. Hodgkin A. L., Keynes R. D. The potassium permeability of a giant nerve fibre // J. Physiol.— 1955.— 120, N 1.— P. 61—88.
15. Kostyuk P. G., Krishtal O. A., Doroshenko P. A. Outward currents in isolated snail neurones // Comp. Biochem. Physiol.— 1975.— 51C, N 3.— P. 259—268.
16. Latorre R., Miller C. Conduction and selectivity in potassium channels // J. Membrane Biol.— 1983.— 71, N 1/2.— P. 11—30.
17. Magura I. S., Krishtal O. A., Valeyev A. E. Behaviour of delayed current under long duration voltage clamp in snail neurones // Comp. Biochem. Physiol.— 1971.— 40, N 6.— P. 715—722.
18. Magura I. S., Prevarskaya N. B., Zachar J. Temperature-dependent properties of delayed outward current channels in somatic membrane of snail neurones // Gen. Physiol. Biophys.— 1985.— 4, N 1.— P. 97—100.

19. Magura I. S., Zachar J., Prevarskaya N. B. Interaction of sodium ions with potassium channels of mollusc neuronal somatic membrane // Gen. Physiol. Biophys.—1985.—4, N 1.—P. 93—96.
20. Meech R. W. Calcium-dependent potassium activation in nervous tissues // Ann. Rev. Biophys. Bioeng.—1978.—7.—P. 1—18.
21. Neher E. Two fast transient current components during voltage clamp on snail neurons // J. Gen. Physiol.—1971.—58, N 1.—P. 36—53.
22. Reuter H., Stevens C. F. Ion conductance and ion selectivity of potassium channels in snail neurones // J. Membrane Biol.—1980.—57, N 1.—P. 103—118.
23. Shagina L. V., Grinfeldt A. E., Lev A. A. Interactions of cation fluxes in gramicidin A channels in lipid bilayer membranes // Nature (Lond). —1978.—273.—P. 243—245.
24. Swenson R. Inactivation of potassium current in squid axon by a variety of quaternary ammonium ions // J. Gen. Physiol.—1981.—77, N 3.—P. 255—271.
25. Ussing H. H. The distinction by means of tracers between active transport and diffusion // Acta Physiol. Scand.—1949.—19, N 1.—P. 43—56.
26. Woodhull A. M. Ionic blockage of sodium channels in nerve // J. Gen. Physiol.—1973.—61, N 5.—P. 687—708.

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

Поступила 27.06.86

УДК 612.825:612.822

Д. П. Артеменко, В. Д. Герасимов

БЛОКИРОВАНИЕ ГАМК-РЕЦЕПЦИИ ПИРАМИДНЫХ НЕЙРОНОВ В ИЗОЛИРОВАННЫХ СРЕЗАХ ГИППОКАМПА КРЫСЫ

Ранее в исследованиях на гиппокампе было обнаружено [7], что микроионофоретическая аппликация ГАМК, являющейся медиатором коркового торможения, на сому пирамидного нейрона вызывает в нем гиперполяризацию мембраны, а такая же аппликация ГАМК на дендриты — деполяризацию. Гиперполяризационные и деполяризационные ГАМК-ответы неодинаково подавляются блокаторами ГАМК-ергической синаптической передачи [6]. Сомы и дендриты пирамидных нейронов обладают разной чувствительностью и десенситизацией к ГАМК [3, 13], а также по-разному реагируют на действие некоторых ее агонистов [6, 13]. Потенцирование эффекта ГАМК в сомах барбитуратами отличается от такового в дендритах [3, 6]. Эти факты свидетельствуют, по-видимому, о существовании на мембране этих клеток разного рода ГАМК-рецепторов, различающихся локализацией и фармакологическими свойствами.

Для дополнительной фармакологической идентификации обнаруженных на пирамидных нейронах ГАМК-рецепторов в данной работе исследовалось влияние ряда антагонистов ГАМК (пикротоксина, пенициллина и бикикуллина) на ее эффекты, вызываемые в слое клеточных тел и дендритов пирамидных нейронов зоны СА₁ гиппокампа. В частности, выяснялось, как в клеточных телах и дендритах под влиянием разных антагонистов изменяется зависимость доза — эффект для ГАМК. Вопрос этот интересен в свете новых данных о месте развития коркового торможения [4, 7] и до настоящего времени не изучался.

Методика

Эксперименты проводили на изолированных *in vitro* переживающих срезах гиппокампа крыс в возрасте 1 мес. Способ приготовления срезов мозга, условия их перфузии, аппликация исследуемых веществ, а также техника отведения и регистрации фокальных потенциалов подробно описаны в наших предыдущих работах [1, 2]. О силе угнетающего действия ГАМК на возбуждение клеток судили по уменьшению амплитуды антидромного популяционного пика [3]. Бикикуллин, пикротоксин или пенициллин