

## Потенціалкеровані кальцієві канали: класифікація та фармакологічні характеристики (частина II)

О.В. Єгорова, О.П. Максимюк, О.І. Фісюнов, О.О. Кришталь

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: egorova@biph.kiev.ua

*Вхід іонів кальцію через потенціалкеровані кальцієві канали опосередковує величезну кількість фізіологічних подій та клітинних відповідей. Численні наукові праці показують, що кальцієві канали беруть участь у процесах синаптичної передачі, викиду медіаторів, регуляції експресії генів, скорочення, формування осциляцій мембранного потенціалу, пейсмекерної активності, вивільнення секретованих речовин з нервових та секреторних клітин, активації кальційзалежних ензимів тощо. У нашому огляді представлено сучасну класифікацію, особливості молекулярної будови, фізіологічні і фармакологічні властивості потенціалкерованих кальцієвих каналів клітин ссавців.*

### РЕГУЛЯЦІЯ Кальцієвих КАНАЛІВ

Застосування електрофізіологічних методів та успіхи у фармакологічних і біохімічних дослідженнях дають змогу значно розширити коло досліджуваних механізмів регуляції кальцієвих каналів. Серед внутрішньоклітинних агентів, що змінюють їх активність, треба виділити іони кальцію, здатні безпосередньо діяти на мембранні канали та активувати різні  $\text{Ca}^{2+}$ -залежні ферменти та білки [1]. Регуляція кальцієвих каналів [2] здійснюється фосфорилуванням каналних молекул протеїнкіназою А (РКА) [3–9], кальцій-кальмодулінзалежною протеїнкіназою (CaM) [10, 11], а також протеїнкіназою С (PKC) [9, 10, 12–17]. Було встановлено прямий вплив на кальцієві канали GTP-зв'язуючих білків (G-білків) [18–22], залучення ароматичних амінокислот [23] чи каскаду арахідонової кислоти [24], а також протеїнофосфатаз, котрі дефосфорилюють кальцієві канали [25–28] та ін.

### НЕОРГАНІЧНІ БЛОКАТОРИ Кальцієвих КАНАЛІВ

Такі полівалентні катіони, як  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  і  $\text{La}^{2+}$  є ефективними блокаторами каль-

цієвих каналів у складі різноманітних препаратів [29]. У нейронах вони викликають не-селективне пригнічення кальцієвого струму в мілімолярних концентраціях. Їх селективна дія починає проявлятися за використання концентрацій від 2 до 20 мкмоль/л. Різна афінність високо- і низькопорогових кальцієвих каналів до  $\text{Cd}^{2+}$  та  $\text{Ni}^{2+}$  дає змогу розділити ці струми через відповідні кальцієві канали. У більшості нейронів  $\text{Cd}^{2+}$  (20 мкмоль/л) селективно блокує високопорогові (ВПК) та не впливає на низькопорогові кальцієві (НПК) канали [30]. Натомість у багатьох нейронах ЦНС ссавців  $\text{Ni}^{2+}$  (40 мкмоль/л) блокує НПК та істотно не впливає на ВПК-канали [30, 31]. Проте існують винятки з цього правила, коли  $\text{Ni}^{2+}$  не можна використовувати для розділення кальцієвих струмів [32]. Так, наприклад, струми в нейронах дорсальних гангліїв та у клітинах нейробластоми людини (IMR32) лише частково блокуються  $\text{Ni}^{2+}$  (100 мкмоль/л), однак за своїми електрофізіологічними характеристиками вони відносяться до НПК-струмів [33, 34]. Одним із можливих пояснень цього феномена може слугувати факт існування кількох підтипів

© О.В. Єгорова, О.П. Максимюк, О.І. Фісюнов, О.О. Кришталь

НПК-каналів [35–38]. Причини селективного блокування ВПК- та НПК-каналів іонами Cd та Ni відповідно не очевидні. Можливо, що ця селективність зумовлена взаємодією блокуючих катіонів з різними центрами зв'язування в ВПК- та НПК-каналах, котрі мають неоднакові енергетичні профілі та локалізацію. Також, вірогідно, що з цієї самої причини проникність для  $\text{Ca}^{2+}$  у НПК- більша, ніж у ВПК-каналів (відношення проникності  $P_{(\text{Ca}^{2+})}/P_{(\text{Ba}^{2+})}$  становить 0,4 та 1,2 відповідно) [39].

Існування всередині ВПК-каналу потенціалчутливого  $\text{Cd}^{2+}$ -зв'язувального центра підтверджує потенціалзалежне блокування ВПК-струму  $\text{Cd}^{2+}$  у мікромольних концентраціях [40–42]. Було показано, що  $\text{Cd}^{2+}$  (20 мкмоль/л) викликає повне його пригнічення при змищенні деполяризувального мембранного потенціалу (МП) до +10 мВ. Проте за наступного його змищення до від'ємних значень, рееструвався «хвіст» цього струму, амплітуда якого залежала від значення МП [42]. Таким чином, дані вказують на те, що  $\text{Cd}^{2+}$  потенціалзалежно взаємодіє з

центром зв'язування, котрий розташований усередині каналу.

Пригнічувальна дія  $\text{Ni}^{2+}$  на НПК-струми також потенціалзалежна, однак має зворотний характер [43]. Іони нікелю в концентрації 100 мкмоль/л ефективно блокують цей струм за потенціалу мембрани -40 мВ, а при змищенні у бік позитивних значень їх ефективність помітно знижується. Оскільки  $\text{Ni}^{2+}$  має менший іонний радіус, ніж  $\text{Cd}^{2+}$ , він оточений більшою водневою оболонкою, і тому здатен блокувати НПК-канали, котрі були активовані при значеннях МП від -60 до -40 мВ, тоді як ВПК-канали за цих самих значень ще не активовані.

## ДИГІДРОПІРИДИНИ

Серед лігандів кальцієвих каналів 1,4-дигідропіридини (рис. 1) використовуються найчастіше для блокування або збільшення потоку  $\text{Ca}^{2+}$  через мембрану. Через високу афінність до кальцієвих каналів дигідропіридини застосовуються для з'ясування локалі-

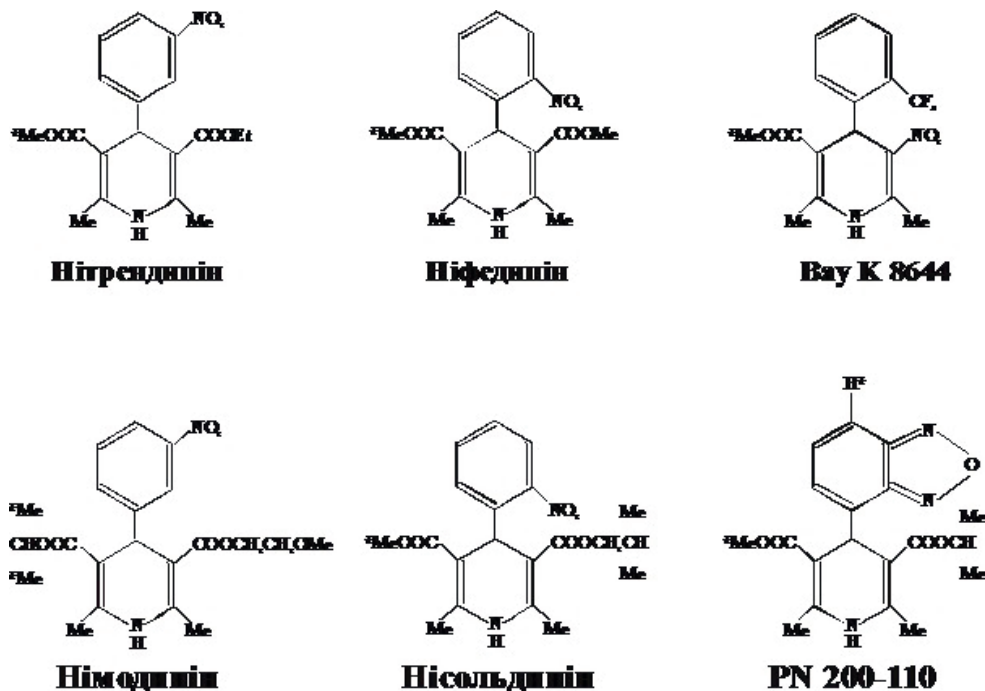


Рис. 1. Дигідропіридини – ліганди потенціалкерованих кальцієвих каналів

зації L-типу кальцієвих каналів, а також для очищення та виділення їх із клітин скелетних м'язів [44–49]. Незважаючи на інтенсивне використання дигідропіридинів у дослідженнях стимул-секреторного поєднання, існує лише незначна кількість праць, присвячених дії цих речовин на нейрональні кальцієві канали. Це пов'язано з тим, що дія дигідропіридинів – потенціалзалежна [50–52]. За блокування кальцієвих каналів нітредипіном збільшення мембранного потенціалу з  $-80$  до  $-10$  мВ у клітинах серцевого м'яза викликає зменшення константи дисоціації з  $0,76$  мкмоль/л до  $0,36$  нмоль/л. Аналогічна залежність блокувальної дії від значення МП, також спостерігається для кальцієвих антагоністів ніфедипіну [52] та німодипіну [53]. У цих працях було показано, що ніфедипін у концентрації  $100$  нмоль/л пригнічує приблизно  $60\%$  ВПК-струму за МП  $-30$  мВ і менше  $10\%$  при  $-90$  мВ. Пригнічувальна дія німодипіну на ВПК-канали залежить як від мембранного потенціалу, так і від частоти стимуляції клітини. Константа дисоціації взаємодії німодипіну з відкритим кальцієвим каналом становить  $1$  нмоль/л.

Залежність дії дигідропіридинів від мембранного потенціалу обмежує діапазон їх використання (від  $-30$  до  $-50$  мВ). З цієї причини немає прямих даних про їх вплив на НПК-канали, що стаціонарно інактивовані за МП  $-50$  мВ. Водночас є дані про селективну блокувальну дію дигідропіридинів на НПК-канали в нейронах ЦНС: рацемат ВауК8644 та енантіомери (+)-(S)-202-791 (+)-PN200-110, вільні від цих обмежень та часто використовуються для ідентифікації дигідропіридинчутливих кальцієвих каналів у тканинах тварин [54]. Вони мають високу афінність до кальцієвих каналів кардіоміоцитів і нервових клітин (константа дисоціації становить  $10$  нмоль/л), а їхній вплив максимальний за дуже низьких значень МП ( $-90$  мВ) [51, 55, 56]. Дія дигідропіридинів на кальцієві канали призводить до таких ефектів:

1) різко збільшується амплітуда кальціє-

вого струму за значень МП від  $-40$  до  $-20$  мВ;

2) крива стаціонарної інактивації зсувається на  $10$ – $20$  мВ до більш від'ємного потенціалу [51];

3) збільшується більш ніж в  $10$  разів тривалість деактивації кальцієвих каналів за МП  $-50$  мВ [51, 57];

4) збільшується на порядок час відкритого стану каналу за використання  $1$  мкмоль/л ВауК8644 [55, 58];

5) прискорюється кінетика інактивації кальцієвого струму в кардіоміоцитах та деяких нейрональних клітинах [51, 59, 60];

6) збільшується вірогідність відкритого стану каналу за використання деполаризувального імпульсу перед основним зміщенням мембранного потенціалу [57].

Всі вищеперераховані ефекти можуть виникати завдяки селективному впливу дигідропіридинів на потенціалзалежну константу швидкості закривання каналу. Однак можливі і другі пояснення на основі інших кінетичних схем [51, 55, 58, 61, 62]. Дія дигідропіридинів більш різноманітна в нейрональних клітинах, ніж в кардіоміоцитах. Так, наприклад, ВауК8644 у концентрації  $1$  мкмоль/л може проявляти слабку або протилежну дію на ВПК-канали [63, 64]. З іншого боку, коли зовнішньоклітинний  $Ca^{2+}$  замінюють на  $Ba^{2+}$ , він виступає як антагоніст [65]. Це вказує на наявність у периферичних нейронах різних підтипів дигідропіридинчутливих кальцієвих каналів.

## ТОКСИНИ *CONUS SPP.* ЯК ІНСТРУМЕНТ ПРИ ВИВЧЕННІ Кальцієвих КАНАЛІВ

Загальноновизнаним джерелом токсинів, які взаємодіють з ацетилхоліновими рецепторами ( $\alpha$ -конотоксини) [66, 67] та потенціалкерованими натрієвими каналами ( $\mu$ -коконотоксини) [67, 68] є рід молюсків *Conus* [69]. У 1984 р. із отрути морського равлика *Conus geographus* вперше був виділений токсин, який має пресинаптичну пригнічувальну дію [70]. Цей пептид, що містить у первинній

структурі 27 амінокислот, був названий  $\omega$ -конотоксином GVIA ( $\omega$ -CTx-GVIA) [71]. Гомологічна ідентичність їх амінокислотної послідовності становить 50–90 %, а в межах одного виду – вона ще вища. Структурною особливістю всіх  $\omega$ -конотоксинів є наявність у їх первинній структурі 6 цистеїнових амінокислотних залишків, які з'єднуються між собою, утворюють 3 дисульфідні зв'язки Cys<sub>1</sub>-Cys<sub>16</sub>, Cys<sub>8</sub>-Cys<sub>19</sub> та Cys<sub>15</sub>-Cys<sub>26</sub> [72, 73], формуючи вторинну структуру молекули (рис. 2). Ці токсини полярні та добре розчинні у воді. Наявність великого сумарного позитивного заряду (+5, +6) забезпечує їм надійне зв'язування з рецепторним центром кальцієвого каналу [74].

### $\omega$ -CTx-GVIA-ТОКСИН

Цей токсин є найбільш відомим у родині *Conus*-токсинів. Як уже раніше згадувалося, він вперше був виділений у 1984 р. із отрути морського молюска *Conus geographus* [71]. Структурний склад його молекули визначають 27 амінокислот та 3 дисульфідні зв'язки (нині широко доступний синтезований пептид цього токсину). Як було показано у багатьох працях [18, 75, 76], токсин  $\omega$ -CTx-GVIA селективно та ефективно блокує N-тип кальцієвих каналів. Водночас є низька праць, у тому числі і на нейронах, в яких він спричиняє блокування L-типу кальцієвих каналів [75, 77, 78]. Концентрація половинної дії (IC<sub>50</sub>) токсину  $\omega$ -CTx-GVIA на N-тип кальцієвих каналів, отримана в електрофізіологічних експериментах, що проведені на пірамідних

нейронах гіпокампа щурів, становить близько 1 нмоль/л [79]. Таке мале значення IC<sub>50</sub> вказує на високу афінність зв'язування цього токсину з N-каналами. У цих експериментах було показано, що афінність токсину  $\omega$ -CTx-GVIA до N-каналів залежить від типу нейрона. IC<sub>50</sub> цього токсину для N-типу кальцієвих каналів симпатичних нейронів жаби становить 33 нмоль/л. Це говорить про те, що «розблокування» N-типу кальцієвих каналів у таких нейронах відбувається набагато швидше, ніж у нейронах щура. Повне відновлення амплітуди N-струму в симпатичних нейронах жаби спостерігали вже через 60 хв після усунення токсину із зовнішньоклітинного розчину. Водночас за такий самий термін у пірамідних нейронах гіпокампа щурів вона залишалася практично без змін. Блокувальна дія  $\omega$ -CTx GVIA-токсину відбувається за принципом «все або нічого», тобто якщо канал заблокований токсином, то він вже не функціонує [79]. Вона не потенціалзалежна, оскільки токсин однаково ефективно блокує N-струм за будь-яких значень МП в діапазоні від –40 до +50 мВ. Інгібування N-каналів також не залежить від валентності проникаючого катіона, однак спостерігається чітка залежність швидкості блокування від концентрації двовалентних катіонів [80]. Збільшення концентрації Ba<sup>2+</sup> або Ca<sup>2+</sup> заданої концентрації токсину призводить до зменшення швидкості пригнічення. Так, підвищення зовнішньоклітинної концентрації Ba<sup>2+</sup> із 5 до 30 ммоль/л викликає збільшення сталої часу блокування N-струму з 29 с до 354 с при 3 мкмоль/л токсину  $\omega$ -CTx GVIA. Швидкість блокувальної дії

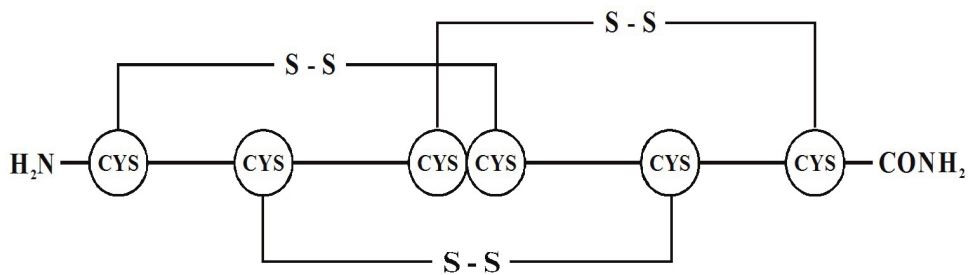


Рис. 2. Структурна організація дисульфідних зв'язків  $\omega$ -конотоксинів

$\omega$ -СТх GVIA-токсинам N-струму описується кінетикою реакції першого порядку і обернено пропорційна концентрації двовалентних катіонів [79]. Таку саму залежність слід очікувати в тому випадку, якщо токсин  $\omega$ -СТх GVIA взаємодіє з N-каналами в місцях високоафінного зв'язування двовалентних катіонів. У цьому разі швидкість блокування залежить від інтервалу часу, протягом якого місце зв'язування лишається вільним від катіонів. Не виключено, що токсин взаємодіє з одним із високоафінних центрів зв'язування, які формують селективність пори кальцієвого каналу [81].

### $\omega$ -СТХ-MVIIA-ТОКСИН

Цей токсин вперше був виділений у 1982 р. з отрути морського молюска *Conus magnus* [82]. Він (як і токсин  $\omega$ -CgTx-GVIA) містить 27 амінокислот та 3 дисульфідні зв'язки, селективно блокує N-тип кальцієвих каналів, однак при цьому має більше значення константи швидкості зворотної реакції [83]. Завдяки цим властивостям, можна буде його використовувати, коли слід швидко усунути дію токсину або задати рівноважну концентрацію.

### $\omega$ -СТХ-MVIIIC-ТОКСИН

Вперше токсин був виділений у 1992 р. з отрути морського молюска *Conus magnus* [72]. Він містить 27 амінокислот та 3 дисульфідні зв'язки, однак він менш селективний, ніж два попередні токсини, та блокує не тільки струми через N- і P-типи  $\text{Ca}^{2+}$ -каналів *in situ*, але й

через канали, що експресовані  $\alpha_{1A}$ -субодиницею [2, 84–86]. У деяких нейрональних препаратах, токсин  $\omega$ -СТх-MVIIIC блокує фракцію струму (що отримала назву Q-струм), що нечутлива до дії  $\omega$ -СТх-GVIA,  $\omega$ -Aga-IVA та дигідропіридинів [84, 85, 87]. Здатність пригнічувати Q-канали стала основою для його застосування, однак слід враховувати його неселективні властивості [25, 88–90].

### $\omega$ -AGA-IVA-ТОКСИН

Пептидний токсин, що містить 48 амінокислот, був виділений з отрути павука *Agelenopsis aperta*, що мешкає в південно-західній Америці. Як було показано [25, 88], токсин  $\omega$ -Aga-IVA селективно та ефективно блокує P-канали в нейронах Пуркінє мозочка шурів.  $\text{IC}_{50}$  для  $\omega$ -Aga-IVA-токсину становить декілька наномолей. Спочатку властивості токсину вивчалися за використання очищеного нативного пептиду, виділеного з отрути. Надалі він був успішно синтезований на структурній основі амінокислотної послідовності природного токсину. Синтезований пептид, котрий наразі вже широко доступний, має таку саму селективність, але менш ефективну блокувальну дію. Відмінність синтезованого токсину від природного тільки в тому, що за однакової концентрації, швидкість його пригнічувальної дії в 2 рази менша, а  $\text{IC}_{50}$  – ненабагато вища [91].

Дисульфідні зв'язки в первинній структурі природного токсину утворюються між  $\text{Cys}_4$ - $\text{Cys}_{20}$ ,  $\text{Cys}_{12}$ - $\text{Cys}_{25}$ ,  $\text{Cys}_{27}$ - $\text{Cys}_{34}$  та  $\text{Cys}_{19}$ - $\text{Cys}_{36}$ , що формує активну структуру моле-

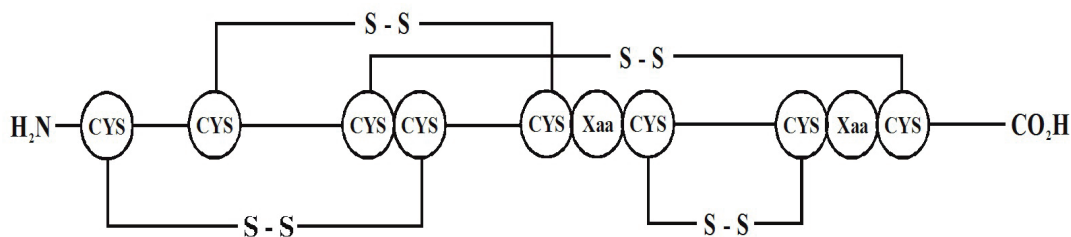


Рис. 3. Структурна організація дисульфідних зв'язків токсину  $\omega$ -AgaIVA

кули (рис. 3). Вірогідно, не всі синтезовані пептиди утворюють аналогічну структуру, що і призводить до зниження активності молекули токсину. Як природні, так і синтетичні токсини блокують з високою селективністю Р-канали та не впливають на Т-, N- і L-канали [25, 91]. За від'ємних МП блокувальна дія токсину на Р-канали повільно зворотна. Водночас швидкість цього процесу може бути прискорена в 10000 разів, якщо клітину стимулювати 25 деполяризуючими імпульсами з частотою 1 Гц і тривалістю 60 мс до значень МП +90 мВ. У результаті практично всі канали припиняють бути зв'язаними з токсином, а повторне прикладання  $\omega$ -Aga-IVA знову викликає блокувальну дію. Ці дані вказують на те, що за МП +90 мВ швидкість оборотної реакції в 10000 разів більша, ніж за потенціалу -90 або -80 мВ. Якщо константа швидкості зв'язування токсину з Р-каналом не потенціалчутлива (що достеменно не встановлено), то при додатних потенціалах афінність токсину до Р-каналів повинна бути в 10000 разів менше, ніж за потенціалу спокою. Молекулярні основи цього явища нез'ясовані. Можливо, що це відбувається внаслідок конформаційних змін, які виникають у разі відкривання каналу у відповідь на деполяризацію [92].

Слід відмітити, що  $\omega$ -Aga-IVA один з небагатьох агентів, що здатні пригнічувати потенціалзалежне вивільнення глутамату в нейрональних препаратах [93–95]. Це блокування обернено пропорційне значенню деполяризуювального стимулу [94]. Поясненням цього є те, що в електрофізіологічних експериментах за високих позитивних значень МП (+100 мВ), при яких відсутня стимуляція клітин, токсин може не зв'язатись з каналом, а також значно знизиться вивільнення глутамату, чутливе до блокувальної дії токсину. Інгібування викиду глутамату токсином  $\omega$ -Aga-IVA, як і  $\omega$ -CTx-GVIA, не є повним, що вказує на наявність інших типів кальцієвих каналів, які беруть участь у регуляції вивільнення глутамату [74].

**Е.В. Егорова, А.П. Максимюк, А.И. Фисюнов, О.А. Крышталь**

## **ПОТЕНЦИАЛУПРАВЛЯЕМЫЕ КальЦИ-ЕВЫЕ КАНАЛЫ: КЛАССИФИКАЦИЯ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА (ЧАСТЬ II)**

Вход ионов кальция через потенциалуправляемые кальциевые каналы опосредует огромное количество физиологических событий и клеточных ответов. Многочисленные научные данные показывают, что кальциевые каналы участвуют в процессах синаптической передачи, выброса медиаторов, регуляции экспрессии генов, сокращения, формировании осцилляций мембранного потенциала, пейсмекарной активности, высвобождении секретируемых веществ из нервных и секреторных клеток, активации кальций зависимых ферментов и др. В данном обзоре представлены современная классификация, особенности молекулярного строения, физиологические и фармакологические свойства потенциалуправляемых кальциевых каналов клеток млекопитающих.

**О. Iegorova, O. Maximyuk, A. Fisyunov, O. Krishtal**

## **VOLTAGE-GATED CALCIUM CHANNELS: CLASSIFICATION AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES (PART II)**

Calcium influx through voltage-gated calcium channels mediate a huge amount of physiological events and cellular responses. Numerous scientific reports indicate that calcium channels are involved in synaptic transmission, neurotransmitter release, regulation of gene expression, cellular membrane voltage oscillations, pacemaker activity, secretion of specific substances from nerve and secretory cells, morphological differentiation, activation of calcium-dependent enzymes, etc. This review represents the modern classification, molecular structure, physiological and pharmacological properties of voltage-gated calcium channels expressed in mammalian cells.

*Bogomoletz Institute of Physiology NAS of Ukraine, Kyiv*

### **REFERENCES**

1. Romanin C, Grosswagen P, Schindler H. Calpastatin and nucleotides stabilize cardiac calcium channel activity in excised patches. *Pflugers Arch.* 1991;418(1–2):86–92.
2. Iegorova O, O. M, Fisyunov A, Krishtal O. Voltage-gated calcium channels: classification and pharmacological properties (part I). *Fiziol Zh.* 2016;62(4):84–94.
3. Fedulova SA, Kostyuk PG, Veselovsky NS. Calcium channels in the somatic membrane of the rat dorsal root ganglion neurons, effect of cAMP. *Brain Res.*

- 1981;214(1):210–4.
4. Fedulova SA, Kostyuk PG, Veselovsky NS. Two types of calcium channels in the somatic membrane of new-born rat dorsal root ganglion neurones. *J Physiol*. 1985;359:431–46.
  5. Erdemli G, Xu YZ, Krnjevic K. Potassium conductance causing hyperpolarization of CA1 hippocampal neurons during hypoxia. *J Neurophysiol*. 1998;80(5):2378–90.
  6. Osterrieder W, Brum G, Hescheler J, Trautwein W, Flockerzi V, Hofmann F. Injection of subunits of cyclic AMP-dependent protein kinase into cardiac myocytes modulates Ca<sup>2+</sup> current. *Nature*. 1982;298(5874):576–8.
  7. Brum G, Flockerzi V, Hofmann F, Osterrieder W, Trautwein W. Injection of catalytic subunit of cAMP-dependent protein kinase into isolated cardiac myocytes. *Pflugers Arch*. 1983;398(2):147–54.
  8. Trautwein W, Cavalie A, Flockerzi V, Hofmann F, Pelzer D. Modulation of calcium channel function by phosphorylation in guinea pig ventricular cells and phospholipid bilayer membranes. *Circ Res*. 1987;61(4 Pt 2):117–23.
  9. Kostyuk PG, Lukyanetz EA, Doroshenko PA. Effects of serotonin and cAMP on calcium currents in different neurones of *Helix pomatia*. *Pflugers Arch*. 1992;420(1):9–15.
  10. McCarron JG, McGeown JG, Reardon S, Ikebe M, Fay FS, Walsh JV, Jr. Calcium-dependent enhancement of calcium current in smooth muscle by calmodulin-dependent protein kinase II. *Nature*. 1992;357(6373):74–7.
  11. Egorova O, Fisyunov O, Maksymyuk O, Kryshchal O. Mechanisms Underlying Positive Modulation of a Current through P-Type Calcium Channels in Purkinje Neurons by an Agonist of Opioid Receptors. *Neurophysiology*. 2016;48(4):230–7.
  12. Albillos A, Artalejo AR, Lopez MG, Gandia L, Garcia AG, Carbone E. Calcium channel subtypes in cat chromaffin cells. *J Physiol*. 1994;477(Pt 2):197–213.
  13. Rane SG, Dunlap K. Kinase C activator 1,2-oleoyl-acetyl-glycerol attenuates voltage-dependent calcium current in sensory neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(1):184–8.
  14. Harris KM, Kongsamut S, Miller RJ. Protein kinase C mediated regulation of calcium channels in PC-12 pheochromocytoma cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986;134(3):1298–305.
  15. DeRiemer SA, Strong JA, Albert KA, Greengard P, Kaczmarek LK. Enhancement of calcium current in Aplysia neurones by phorbol ester and protein kinase C. *Nature*. 1985;313(6000):313–6.
  16. Fischmeister R, Hartzell HC. Mechanism of action of acetylcholine on calcium current in single cells from frog ventricle. *J Physiol*. 1986;376:183–202.
  17. Mironov SL, Langohr K, Haller M, Richter DW. Hypoxia activates ATP-dependent potassium channels in inspiratory neurones of neonatal mice. *J Physiol*. 1998;509 ( Pt 3):755–66.
  18. Plummer MR, Logothetis DE, Hess P. Elementary properties and pharmacological sensitivities of calcium channels in mammalian peripheral neurons. *Neuron*. 1989;2(5):1453–63.
  19. Plummer MR, Hess P. Reversible uncoupling of inactivation in N-type calcium channels. *Nature*. 1991;351(6328):657–9.
  20. Scott RH, Dolphin AC. The agonist effect of Bay K 8644 on neuronal calcium channel currents is promoted by G-protein activation. *Neurosci Lett*. 1988;89(2):170–5.
  21. Yatani A, Imoto Y, Codina J, Hamilton SL, Brown AM, Birnbaumer L. The stimulatory G protein of adenylyl cyclase, G<sub>s</sub>, also stimulates dihydropyridine-sensitive Ca<sup>2+</sup> channels. Evidence for direct regulation independent of phosphorylation by cAMP-dependent protein kinase or stimulation by a dihydropyridine agonist. *J Biol Chem*. 1988;263(20):9887–95.
  22. Hamilton SL, Codina J, Hawkes MJ, Yatani A, Sawada T, Strickland FM, et al. Evidence for direct interaction of Gs alpha with the Ca<sup>2+</sup> channel of skeletal muscle. *J Biol Chem*. 1991;266(29):19528–35.
  23. Kostyuk PG, Martynyuk AE, Pogorelaya N. Effects of intracellular administration of L-tyrosine and L-phenylalanine on voltage-operated calcium conductance in PC12 pheochromocytoma cells. *Brain Res*. 1991;550(1):11–4.
  24. Bosma MM, Bernheim L, Leibowitz MD, Pfaffinger PJ, Hille B. Modulation of M current in frog sympathetic ganglion cells. *Soc Gen Physiol Ser*. 1990;45:43–59.
  25. Mintz IM, Adams ME, Bean BP. P-type calcium channels in rat central and peripheral neurons. *Neuron*. 1992;9(1):85–95.
  26. Sullivan JM, Lasater EM. Sustained and transient calcium currents in horizontal cells of the white bass retina. *J Gen Physiol*. 1992;99(1):85–107.
  27. Chad JE, Eckert R. An enzymatic mechanism for calcium current inactivation in dialysed *Helix* neurones. *J Physiol*. 1986;378:31–51.
  28. Kostyuk PG, Lukyanetz EA. Mechanisms of antagonistic action of internal Ca<sup>2+</sup> on serotonin-induced potentiation of Ca<sup>2+</sup> currents in *Helix* neurones. *Pflugers Arch*. 1993;424(1):73–83.
  29. Hagiwara S, Byerly L. Calcium channel. *Annu Rev Neurosci*. 1981;4:69–125.
  30. Fox AP, Nowycky MC, Tsien RW. Kinetic and pharmacological properties distinguishing three types of calcium currents in chick sensory neurones. *J Physiol*. 1987;394:149–72.
  31. Crunelli V, Lightowler S, Pollard CE. A T-type Ca<sup>2+</sup> current underlies low-threshold Ca<sup>2+</sup> potentials in cells of the cat and rat lateral geniculate nucleus. *J Physiol*. 1989;413:543–61.
  32. Boland LM, Dingledine R. Multiple components of both transient and sustained barium currents in a rat dorsal root ganglion cell line. *J Physiol (Lond)*. 1990;420:223–45:223–45.
  33. Carbone E, Lux HD. Kinetics and selectivity of a low-voltage-activated calcium current in chick and rat sensory neurones. *J Physiol*. 1987;386:547–70.

34. Carbone E, Lux HD. Single low-voltage-activated calcium channels in chick and rat sensory neurones. *J Physiol.* 1987;386:571–601.
35. Huguenard JR. Low-threshold calcium currents in central nervous system neurons. *Annu Rev Physiol.* 1996;58:329–48.
36. Kostyuk PG. Low-voltage activated calcium channels: achievements and problems. *Neuroscience.* 1999;92(4):1157–63.
37. Tarasenko AN, Kostyuk PG, Eremin AV, Isaev DS. Two types of low-voltage-activated Ca<sup>2+</sup> channels in neurones of rat laterodorsal thalamic nucleus. *J Physiol.* 1997;499 (Pt 1)(Pt 1):77–86.
38. Zhuravleva SO, Kostyuk PG, Shuba YM. Divalent cation selectivity of the subtypes of low voltage-activated Ca<sup>2+</sup> channels in thalamic neurons. *Neuroreport.* 1999;10(3):651–7.
39. Carbone E, Swandulla D. Neuronal calcium channels: kinetics, blockade and modulation. *Prog Biophys Mol Biol.* 1989;54(1):31–58.
40. Byerly L, Chase PB, Stimers JR. Permeation and interaction of divalent cations in calcium channels of snail neurons. *J Gen Physiol.* 1985;85(4):491–518.
41. Lansman JB, Hess P, Tsien RW. Blockade of current through single calcium channels by Cd<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, and Ca<sup>2+</sup>. Voltage and concentration dependence of calcium entry into the pore. *J Gen Physiol.* 1986;88(3):321–47.
42. Swandulla D, Armstrong CM. Fast-deactivating calcium channels in chick sensory neurons. *J Gen Physiol.* 1988;92(2):197–218.
43. Carbone E, Clementi F, Formenti A, Pollo A, Sher E. Action of Ca<sup>2+</sup> agonists/antagonists in mammalian peripheral neurons. *Cell Biol Int Rep.* 1989;13(12):1155–64.
44. Glossmann H, Ferry DR, Boschek CB. Purification of the putative calcium channel from skeletal muscle with the aid of [3H]-nimodipine binding. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1983;323(1):1–11.
45. Borsotto M, Barhanin J, Norman RI, Lazdunski M. Purification of the dihydropyridine receptor of the voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> channel from skeletal muscle transverse tubules using (+) [3H]PN 200-110. *Biochem Biophys Res Commun.* 1984;122(3):1357–66.
46. Curtis BM, Catterall WA. Purification of the calcium antagonist receptor of the voltage-sensitive calcium channel from skeletal muscle transverse tubules. *Biochemistry.* 1984;23(10):2113–8.
47. Campbell KP, Leung AT, Sharp AH. The biochemistry and molecular biology of the dihydropyridine-sensitive calcium channel. *Trends Neurosci.* 1988;11(10):425–30.
48. Ahlijanian MK, Westenbroek RE, Catterall WA. Subunit structure and localization of dihydropyridine-sensitive calcium channels in mammalian brain, spinal cord, and retina. *Neuron.* 1990;4(6):819–32.
49. Tanabe T, Takeshima H, Mikami A, Flockerzi V, Takahashi H, Kangawa K, et al. Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle. *Nature.* 1987;328(6128):313–8.
50. Bean BP. Nitrendipine block of cardiac calcium channels: high-affinity binding to the inactivated state. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984;81(20):6388–92.
51. Sanguinetti MC, Krafte DS, Kass RS. Voltage-dependent modulation of Ca channel current in heart cells by Bay K8644. *J Gen Physiol.* 1986;88(3):369–92.
52. Rane SG, Holz GGt, Dunlap K. Dihydropyridine inhibition of neuronal calcium current and substance P release. *Pflugers Arch.* 1987;409(4–5):361–6.
53. Cohen CJ, McCarthy RT. Nimodipine block of calcium channels in rat anterior pituitary cells. *J Physiol.* 1987;387:195–225.
54. Reuter H, Porzig H, Kokubun S, Prod'hom B. 1,4-Dihydropyridines as tools in the study of Ca<sup>2+</sup> channels. *Trends Neurosci.* 1985;8:396–400.
55. Brown AM, Kunze DL, Yatani A. The agonist effect of dihydropyridines on Ca channels. *Nature.* 1984;311(5986):570–2.
56. Kokubun S, Prod'hom B, Becker C, Porzig H, Reuter H. Studies on Ca channels in intact cardiac cells: voltage-dependent effects and cooperative interactions of dihydropyridine enantiomers. *Mol Pharmacol.* 1986;30(6):571–84.
57. Hoshi T, Smith SJ. Large depolarization induces long openings of voltage-dependent calcium channels in adrenal chromaffin cells. *J Neurosci.* 1987;7(2):571–80.
58. Hess P, Lansman JB, Tsien RW. Different modes of Ca channel gating behaviour favoured by dihydropyridine Ca agonists and antagonists. *Nature.* 1984;311(5986):538–44.
59. Markwardt F, Nilius B. Modulation of calcium channel currents in guinea-pig single ventricular heart cells by the dihydropyridine Bay K 8644. *J Physiol.* 1988;399:559–75.
60. Carbone E, Formenti A, Pollo A. Multiple actions of Bay K 8644 on high-threshold Ca channels in adult rat sensory neurons. *Neurosci Lett.* 1990;111(3):315–20.
61. Kokubun S, Reuter H. Dihydropyridine derivatives prolong the open state of Ca channels in cultured cardiac cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1984;81(15):4824–7.
62. Lacerda AE, Brown AM. Nonmodal gating of cardiac calcium channels as revealed by dihydropyridines. *J GenPhysiol.* 1989;93(6):1243–73.
63. Dolphin AC, Scott RH. Calcium channel currents and their inhibition by (-)-baclofen in rat sensory neurones: modulation by guanine nucleotides. *J Physiol (Lond).* 1987;386:1–17.
64. Jones SW, Marks TN. Calcium currents in bullfrog sympathetic neurons. I. Activation kinetics and pharmacology. *J Gen Physiol.* 1989;94(1):151–67.
65. Boll W, Lux HD. Action of organic antagonists on neuronal calcium currents. *Neurosci Lett.* 1985;56(3):335–9.
66. Gray WR, Luque A, Olivera BM, Barrett J, Cruz LJ. Peptide toxins from *Conus geographus* venom. *J Biol Chem.* 1981;256(10):4734–40.
67. Gray WR, Olivera BM, Cruz LJ. Peptide toxins from venomous *Conus* snails. *Annu Rev Biochem.* 1988;57:665–700.



68. Cruz LJ, Olivera BM. Calcium channel antagonists. Omega-conotoxin defines a new high affinity site. *J Biol Chem.* 1986;261(14):6230–3.
69. Olivera BM, Rivier J, Clark C, Ramilo CA, Corpuz GP, Abogadie FC, et al. Diversity of Conus neuropeptides. *Science.* 1990;249(4966):257–63.
70. Kerr LM, Yoshikami D. A venom peptide with a novel presynaptic blocking action. *Nature.* 1984;308(5956):282–4.
71. Olivera BM, McIntosh JM, Cruz LJ, Luque FA, Gray WR. Purification and sequence of a presynaptic peptide toxin from Conus geographus venom. *Biochemistry.* 1984;23(22):5087–90.
72. Hillyard DR, Monje VD, Mintz IM, Bean BP, Nadasdi L, Ramachandran J, et al. A new Conus peptide ligand for mammalian presynaptic Ca<sup>2+</sup> channels. *Neuron.* 1992;9(1):69–77.
73. Monje VD, Haack JA, Naisbitt SR, Miljanich G, Ramachandran J, Nadasdi L, et al. A new Conus peptide ligand for Ca channel subtypes. *Neuropharmacology.* 1993;32(11):1141–9.
74. Saccomano NA, Ahlijanian MK. Calcium channel toxins: tools to study channel structure and function. *Drug Development Reseach.* 1994;33:319–43.
75. Aosaki T, Kasai H. Characterization of two kinds of high-voltage-activated Ca-channel currents in chick sensory neurons. Differential sensitivity to dihydropyridines and  $\omega$ -conotoxin GVIA. *Pflugers Arch.* 1989;414(2):150–6.
76. Regan LJ, Sah DW, Bean BP. Ca<sup>2+</sup> channels in rat central and peripheral neurons: high-threshold current resistant to dihydropyridine blockers and  $\omega$ -conotoxin. *Neuron.* 1991;6(2):269–80.
77. Mynlieff M, Beam KG. Characterization of voltage-dependent calcium currents in mouse motoneurons. *J Neurophysiol.* 1992;68(1):85–92.
78. Williams ME, Brust PF, Feldman DH, Patthi S, Simerson S, Maroufi A, et al. Structure and functional expression of an omega-conotoxin-sensitive human N-type calcium channel. *Science.* 1992;257(5068):389–95.
79. Boland LM, Morrill JA, Bean BP. omega-Conotoxin block of N-type calcium channels in frog and rat sympathetic neurons. *J Neurosci.* 1994;14(8):5011–27.
80. McCleskey EW, Fox AP, Feldman DH, Cruz LJ, Olivera BM, Tsien RW, et al. Omega-conotoxin: direct and persistent blockade of specific types of calcium channels in neurons but not muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(12):4327–31.
81. Kuo CC, Hess P. Ion permeation through the L-type Ca<sup>2+</sup> channel in rat phaeochromocytoma cells: two sets of ion binding sites in the pore. *J Physiol (Lond).* 1993;466:629–55.
82. McIntosh M, Cruz LJ, Hunkapiller MW, Gray WR, Olivera BM. Isolation and structure of a peptide toxin from the marine snail Conus magus. *Arch Biochem Biophys.* 1982;218(1):329–34.
83. Stoehr SJ, Dooley DJ. Characteristics of [125I]omega-conotoxin MVIIA binding to rat neocortical membranes. *Neurosci Lett.* 1993;161(1):113–6.
84. Zhang JF, Randall AD, Ellinor PT, Horne WA, Sather WA, Tanabe T, et al. Distinctive pharmacology and kinetics of cloned neuronal Ca<sup>2+</sup> channels and their possible counterparts in mammalian CNS neurons. *Neuropharmacology.* 1993;32(11):1075–88.
85. Sather WA, Tanabe T, Zhang JF, Mori Y, Adams ME, Tsien RW. Distinctive biophysical and pharmacological properties of class A (BI) calcium channel  $\alpha_1$  subunits. *Neuron.* 1993;11(2):291–303.
86. Grantham CJ, Bowman D, Bath CP, Bell DC, Bleakman D. Omega-conotoxin MVIIIC reversibly inhibits a human N-type calcium channel and calcium influx into chick synaptosomes. *Neuropharmacology.* 1994;33(2):255–8.
87. Wheeler DB, Randall A, Tsien RW. Roles of N-type and Q-type Ca<sup>2+</sup> channels in supporting hippocampal synaptic transmission. *Science.* 1994;264(5155):107–11.
88. Mintz IM, Venema VJ, Swiderek KM, Lee TD, Bean BP, Adams ME. P-type calcium channels blocked by the spider toxin  $\omega$ -Aga-IVA. *Nature.* 1992;355(6363):827–9.
89. Mintz IM, Venema VJ, Adams ME, Bean BP. Inhibition of N- and L-type Ca<sup>2+</sup> channels by the spider venom toxin omega-Aga-IIIa. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(15):6628–31.
90. Mintz IM. Block of Ca channels in rat central neurons by the spider toxin omega-Aga-IIIa. *J Neurosci.* 1994;14(5 Pt 1):2844–53.
91. Mintz IM, Bean BP. Block of calcium channels in rat neurons by synthetic omega-Aga-IVA. *Neuropharmacology.* 1993;32(11):1161–9.
92. Bean BP, Mintz IM, Boland LM, Sah DW, Morrill JA. Pharmacology of voltage-dependent calcium channels. In: Soria B, Cena V, editors. *Ion channel pharmacology: United States by Oxford University; 1988.*
93. Turner TJ, Adams ME, Dunlap K. Calcium channels coupled to glutamate release identified by omega-Aga-IVA. *Science.* 1992;258(5080):310–3.
94. Turner TJ, Adams ME, Dunlap K. Multiple Ca<sup>2+</sup> channel types coexist to regulate synaptosomal neurotransmitter release. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(20):9518–22.
95. Luebke JI, Dunlap K, Turner TJ. Multiple calcium channel types control glutamatergic synaptic transmission in the hippocampus. *Neuron.* 1993;11(5):895–902.

*Матеріал надійшов до редакції 02.02.2017*