

# Функціонування катіонних каналів великої провідності ядерної мембрани під впливом модуляторів нікотинових холінорецепторів

А.Б. Котлярова, О.А. Котик, І.В. Юришинець, С.М. Марченко

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, Київ; e-mail: annkotliarova@gmail.com

*У ядерних мембранах нейронів та кардіоміоцитів у значній кількості експресуються катіонні канали великої провідності (LCC-канали). За допомогою електрофізіологічної реєстрації струмів крізь внутрішню ядерну мембрану нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів перевіряли дію на LCC-канали низки модуляторів (активаторів та інгібіторів) n-холінорецепторів. Серед досліджених нами речовин виражений вплив чинили рокуронію і піпекуронію броміди та нікотин. Фармакологічна чутливість LCC-каналів ядерних мембран нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів є майже ідентичною, що свідчить про наявність єдиної популяції цих каналів у досліджуваних об'єктах. У концентрації 0,2 ммоль/л нікотин вдвічі зменшував амплітуду струму через LCC-канали, в той час як рокуронію бромід та піпекуронію бромід у такій самій концентрації інгібували на 7 і 12% відповідно. Отже, серед перелічених речовин лише нікотин діє на LCC-канали з ефективністю, наближеною до впливу раніше дослідженого нами тубокурарину, відповідно саме вони залишаються найбільш перспективними для подальшого застосування як інструменту при вивченні фізіологічної ролі цих каналів.*

*Ключові слова: ядерна мембрана, LCC-канали; n-холіноблокатори; агоністи n-холінорецепторів; піпекуронію бромід; рокуронію бромід; гексаметоній; метиллікаконітин (MLA);  $\alpha$ -коптоксин PeIA; PNU 282987; нікотин.*

## ВСТУП

Перинуклеарний простір – один з основних депо іонів кальцію у клітині [1]. Реалізація цієї функції ядра забезпечується наявністю в його внутрішній та зовнішній мембранах різних транспортувальних систем, основними з яких є інозитол-1,4,5-трифосфатні рецептори, кальцієва помпа, транспортери кількох типів та спонтанно активні канали [2, 3]. Іонні канали ядерної оболонки характеризуються різною провідністю (50 пСм – 1 нСм) [4]. Згідно з даними електрофізіологічних досліджень, отриманими в нашій лабораторії, у ядерних мембранах найбільш поширеним типом спонтанно активних каналів є катіонні канали великої провідності (LCC-канали). Показано, що їх провідність становить  $198 \pm 27$  і  $209 \pm 13$  пСм у ядерних мембранах

нейронів Пуркінє мозочка та кардіоміоцитів відповідно [3, 5]. Ці канали мають відносно повільну кінетику та є потенціалзалежними, при позитивних значеннях потенціалу (+40 – +80 мВ) вони більшість часу перебувають у відкритому стані, тоді як при негативних значеннях (від –40 до –80 мВ) знижується їх активність. Через LCC-канали добре проникає  $K^+$ , вони є низькоселективними до  $Na^+$  та непроникні для двовалентних катіонів  $Ca^{2+}$ ,  $Ba^{2+}$  та аніонів  $Cl^-$  [3, 5].

На цей час описано основні біофізичні властивості LCC-каналів, однак досі залишаються нез'ясованими їх структурно-функціональні особливості. Висока (порівняно з іншими типами каналів) провідність LCC-каналів, котра поєднується з відносно великою щільністю їх розташування в ядерній мембрані свідчить про їх важливу фізіо-

© А.Б. Котлярова, О.А. Котик, І.В. Юришинець, С.М. Марченко

логічну роль у забезпеченні механізмів регуляції ядерних функцій. Робоча гіпотеза, котра лежить в основі наших досліджень, полягає у компенсаторному зміщенні локального потенціалу при вивільненні  $\text{Ca}^{2+}$  з перинуклеарного простору за рахунок протилежно спрямованого транспорту  $\text{K}^{+}$  крізь ядерну мембрану. Такий механізм може запобігати швидкому зміщенню мембранного потенціалу в бік кальцієвого рівноважного потенціалу і тим самим сприяти збільшенню тривалості вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з депо.

Ідентифікація специфічного блокатора є важливою з точки зору пошуку інструменту для подальшого встановлення структури та фізіологічної ролі іонних каналів. Раніше було показано, що LCC-канали нечутливі до 4-амінопіридину (2 ммоль/л), тетраетиламонію (10 ммоль/л) – специфічних блокаторів калієвих каналів, а також до рутенію червоного (10 мкмоль/л) – інгібітора ріанодинових рецепторів і гепарину [3]. Ефективними ж виявилися деякі міорелаксанти – речовини, що спричиняють зворотний параліч або розслаблення скелетної мускулатури. Зокрема, блокатор нікотинових ацетилхолінових рецепторів d-тубокурарин, помітно зменшував активність LCC-каналів [6, 7], дитилін та атракуріум [7] були менш ефективними, ніж d-тубокурарин. Усі протестовані нами речовини, котрі подіяли на функціонування LCC-каналів (d-тубокурарин, атракуріум, дитилін) належать до n-холіноблокаторів, але були дієвими у відносно високих концентраціях (від 0,2–2 ммоль/л), тому логічно продовжити пошук ефективнішого блокатора серед речовин саме цієї групи.

Метою нашої роботи було дослідити вплив низки модуляторів n-холінорецепторів на LCC-канали, а також порівняти фармакологічну чутливість цих каналів у ядерній мембрані нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів.

## МЕТОДИКА

Дослідження виконано на 3–4-тижневих щурах ліній Вістар та Фішер, відповідно до положень Європейської Конвенції із захисту тварин, яких використовують в експериментах (Страсбург, 1986), а також положень Комітету з біоетики Інституту фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України. Після декапітації тварини швидко виділяли мозочок або серце та поміщали їх у холодний розчин (4°C) на основі NaCl, який містив (ммоль/л): NaCl – 150; HEPES – 10; EDTA – 1 (pH 7,4).

*Виділення ядер нейронів Пуркінє.* Спочатку виготовляли зрізи мозочка товщиною приблизно 400 мкм та поміщали у розчин (ммоль/л): калію глюконат – 150; EDTA – 1; HEPES – 10; HEPES-калієва сіль – 10 (pH 7,2), також додавали суміш інгібіторів протеаз (cOmplete Protease Inhibitor Cocktail tablets, «Roche», Німеччина) у концентрації 1,6 мг/мл. Тканину гомогенізували пропусканням через металеву голку діаметром 0,7 мм, після чого гомогенат центрифугували 5 хв при 2000g (4°C; miniSpin «EppendorfAG», Німеччина). Детальніше методику отримання ізольованих ядер нейронів Пуркінє описано Марченком і співавт. [3].

*Виділення ядер кардіоміоцитів.* Після виділення міокарда та відмивання від крові, його переносили у розчин такого складу (ммоль/л): цукроза – 300; KCl – 60; HEPES – 10; суміш інгібіторів протеаз (pH 7,2), в якому він був подрібнений та гомогенізований. Для отримання однорідної суспензії тканини застосовували скляний гомогенізатор об'ємом 2 мл (Dounce «Bellco Glass», США). З отриманого гомогенату відокремлювали ядерну фракцію центрифугуванням протягом 10 хв при 1000g (4°C). Детальніше методика виділення ядер кардіоміоцитів для електрофізіологічних досліджень описана нами раніше [8].

Після центрифугування зразків обох типів тканин супернатант зливали, а осад

ресуспендували розчином, що містив (ммоль/л): KCl – 150; HEPES – 8; HEPES-калієва сіль – 12; EGTA – 1 (рН 7,2) – далі робочий розчин KCl. Отриману суспензію ядер поміщали у прозору робочу камеру об'ємом 200 мкл і залишали на 4–7 хв, поки ядра осядуть на дно камери. Потім препарат відмивали від залишків інших органел робочим розчином KCl, яким заповнювали також і patch-піпетки. Останні з опором від 8 до 14 МОм виготовляли з боросилікатного скла (“Sutter Instruments”, США).

*Електрофізіологічні дослідження.* Струми крізь окремі іонні канали внутрішньої ядерної мембрани реєстрували, використовуючи метод patch-clamp у конфігурації “nucleus-attached” або “excised patch” у режимі фіксації потенціалу. Значення показників отримували за допомогою підсилювача Visual-Patch 500 («Bio-Logic», Франція). Індиферентний електрод Ag–AgCl був сполучений із робочою камерою через агаровий місток. Основною досліджуваною характеристикою є середній струм, який проходить через канал, вимірний у інтервалі 200–400 мс. Отримані результати проаналізовано за допомогою програми Clampfit 10.3 (“Axon Instruments”, США). Для графічного їх зображення використовували OriginPro 9.0 (“OriginLab Corporation”, США). Результати представлено у вигляді  $M \pm m$ , де  $M$  – середнє,  $m$  – стандартна похибка середнього. Вірогідність різниці оцінювали на основі критерію  $t$  Стюдента (\* $P \leq 0,05$ , \*\* $P \leq 0,01$ , \*\*\* $P \leq 0,001$ ).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ми перевірили вплив модуляторів н-холінорецепторів на LCC-канали великої провідності ядерних мембран нейронів Пуркінє та кардіоміоцитів. Вивчення впливу діючих речовин на одні і ті самі іонні канали різних об'єктів є дуже важливим з точки зору виявлення можливих їх субпопуляцій, що можуть характеризуватися різною фармакологічною чутливістю. Наприклад, нейрони

симпатичних і парасимпатичних гангліїв містять дві популяції н-холінорецепторів, котрі відрізняються фармакологічною чутливістю до блокаторів і тривалістю перебування каналів у відкритому стані [9]. Дію речовин перевіряли у низьких концентраціях, адже нас особливо цікавила ідентифікація ефективнішого блокатора, ніж раніше описаний тубокурарин, який пригнічував LCC-канали у відносно високих концентраціях (200 мкмоль/л – інгібування на 45%).

Помітний вплив на їх функціональну активність чинив блокатор н-холінорецепторів [10] піпекуронію бромід, який зменшував провідність LCC-каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє на 11% при аплікації 0,2 ммоль/л та на 68% за наявності 2 ммоль/л ( $n = 3$ ). Подібну зміну параметрів спостерігали при дослідженні каналів ядерної мембрани кардіоміоцитів, де піпекуронію бромід у таких самих концентраціях зменшував струм через канал на 12 і 55% відповідно ( $n = 3$ ; рис. 1). Оскільки ефекти модуляторів не залежали від об'єкту досліджень, фрагменти оригінальних реєстрацій представлено для кожної з речовин на одному з них.

Наступним перевіреном нами холіноблокатором був недеполяризуючий нервово-м'язовий релаксant рокуронію бромід [11], який чинив виражений пригнічуючий вплив на LCC-канали ядерних мембран обох об'єктів. Після його аплікації спостерігали дозозалежне зменшення амплітуди струму через канал нейронів Пуркінє (в концентрації 0,2 ммоль/л на 8%, 2 ммоль/л – 47%;  $n = 3$ ) та кардіоміоцитів (0,2 ммоль/л – 7%, 2 ммоль/л – 52%;  $n = 4$ ). Кількість відкритих каналів зменшувалася вдвічі за наявності 1–2 ммоль/л блокатора у середовищі (рис. 2). Ефекти досліджуваних речовин виявилися зворотними, оскільки після відмивання їх робочим розчином, струм через LCC-канали повертався до значень, як у контролі.

Під впливом гангліоблокатора гексаметонію [12] (0,05–2 ммоль/л) провідність каналу та час його перебування у відкритому

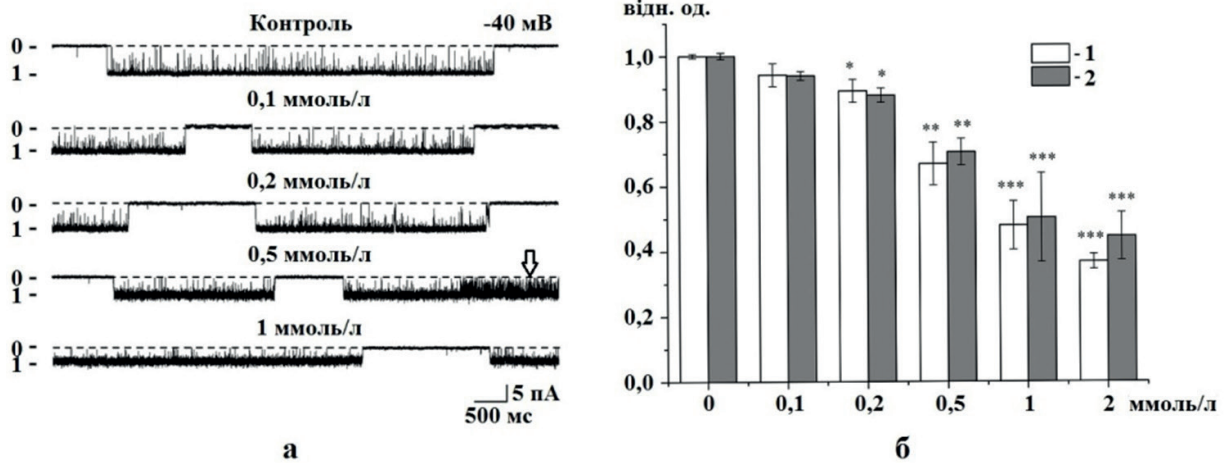


Рис. 1. Вплив пікекуронію броміду на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани. Приклад реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє при потенціалі  $-40$  мВ (а): 0 – нульовий рівень струму, 1 – відкритий канал.  $K^+$ -струм через канали, нормалізовані показники (б): при аплікації пікекуронію броміду в концентрації 0,1–2 ммоль/л (1 – нейронів Пуркінє мозочка, 2 – кардіоміоцитів). \* $P \leq 0,05$ , \*\* $P \leq 0,01$ , \*\*\* $P \leq 0,001$  відносно контролю

стані достовірно не змінилися (по  $n = 3$  для ядер нейронів та кардіоміоцитів; рис. 3). Також незмінною залишилась амплітуда струму крізь LCC-канали за дії селективного антагоніста  $\alpha 7$ -субодиниці ацетилхолінового рецептора метиллікаконітину (MLA) [12, 13] у концентрації 0,1 ммоль/л

( $n = 3$ ). Неефективним виявився також інгібітор  $\alpha 9\alpha 10$  і  $\alpha 3\beta 2$  субтипів н-холінорецепторів  $\alpha$ -конотоксин PeIA [14] (0,1–0,2 ммоль/л; рис. 4).

У наступних серіях експериментів було перевірено вплив агоністів н-холіноблокаторів. Штучно синтезований активатор  $\alpha 7$ -

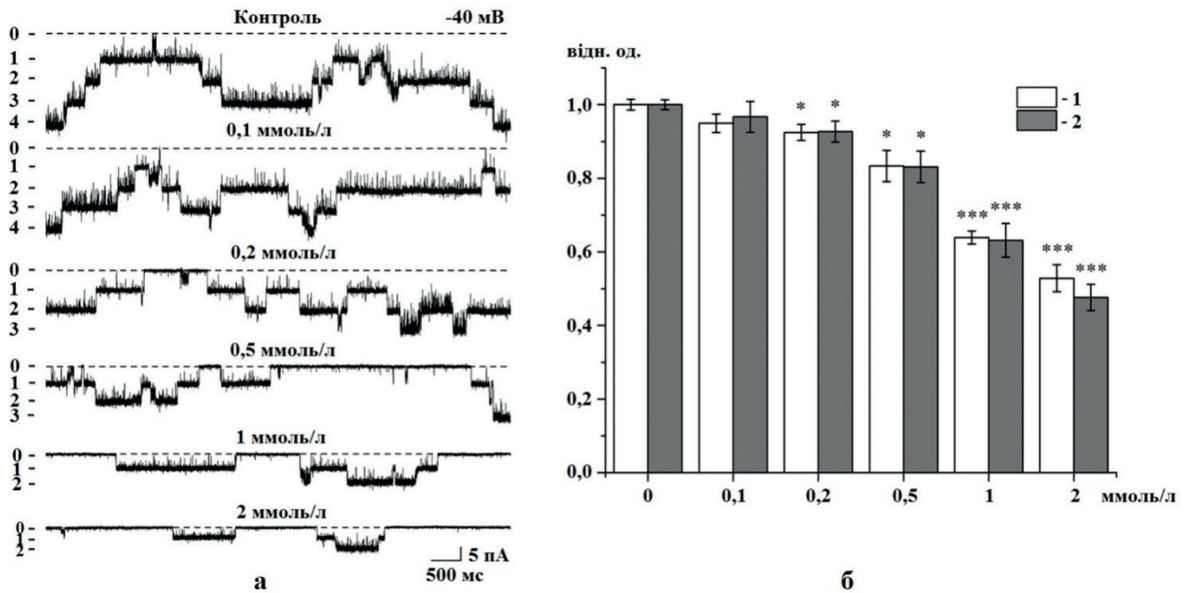


Рис. 2. Активність LCC-каналів ядерної мембрани у разі дії рокуронію броміду. Оригінальні реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів при потенціалі  $-40$  мВ (а): 0 – всі канали закриті, від 1 до 4 позначено відповідну кількість відкритих каналів. Середні нормовані амплітуди струму через LCC-канал (б): при аплікації рокуронію броміду в концентрації від 0,1 до 2 ммоль/л (1 – нейронів Пуркінє мозочка, 2 – кардіоміоцитів)

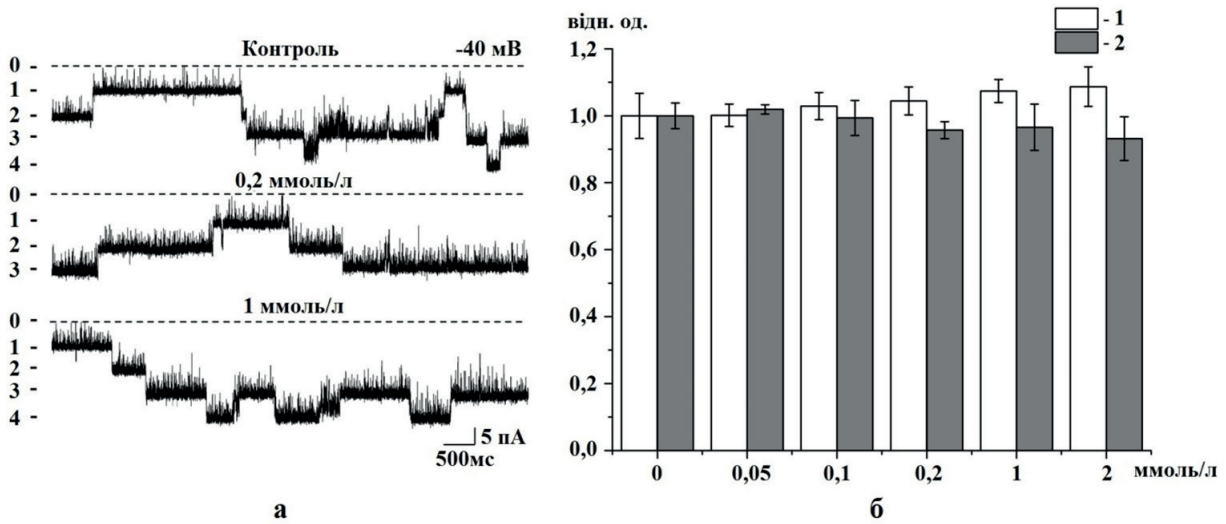


Рис. 3. Активність LCC-каналів ядерної мембрани за дії гексаметонію. Оригінальні реєстрації струму через LCC-канали ядерної мембрани кардіоміоцитів при потенціалі  $-40$  мВ (а): 0 – всі канали закриті, від 1 до 4 позначено відповідну кількість відкритих каналів.  $K^+$ -струм через канал, нормалізовані показники (б): при аплікації гексаметонію в концентрації від 0,05 до 2 ммоль/л (1 – нейронів Пуркінє мозочка, 2 – кардіоміоцитів)

субодиниці холінорецептора PNU 282987 [12, 15] не спричиняв статистично достовірних змін функціонування LCC-каналів ядерної мембрани ( $n = 3$ ; рис. 4). Природний агоніст н-холінорецепторів плазматичної [12] та мітохондріальної мембран [16, 17] нікотин у концентрації 0,01–0,2 ммоль/л зменшував провідність каналів ядерної мембрани ( $n = 5$ ). При цьому він виявився єдиним серед

перевіраних агоністів н-холінорецепторів, який подіяв на LCC-канали, а його ефект був подібним до впливу d-тубокурарину. Провідність катіонних каналів ядерної мембрани нейронів зменшилася на 50% за дії цієї речовини в концентрації 0,2 ммоль/л (див. рис. 4).

Отже, серед перевіраних модуляторів н-холінорецепторів найбільш виражений ефект мав нікотин, тоді як міорелаксанти

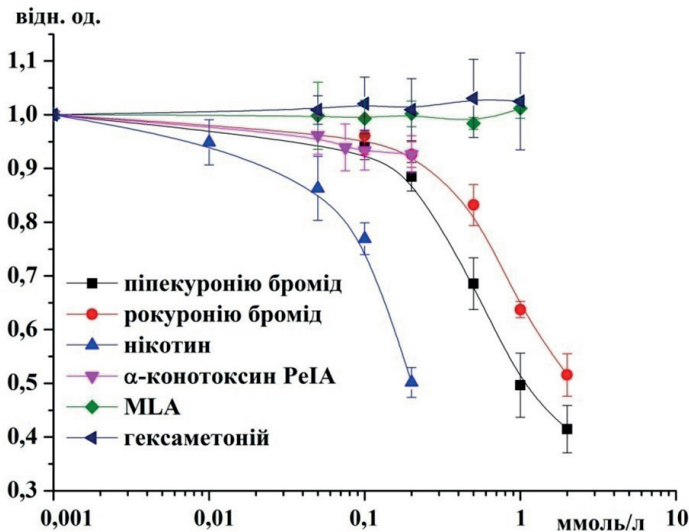


Рис. 4. Усереднені нормовані концентраційні залежності впливу модуляторів н-холінорецепторів на  $K^+$ -струм крізь LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє і кардіоміоцитів

рокуронію бромід та піпекуронію бромід пригнічували функціональну активність LCC-каналів у більших на порядок концентраціях. З'ясувалося також, що LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів мають дуже подібну фармакологічну чутливість до модуляторів н-холінорецепторів, що свідчить про наявність єдиної популяції досліджуваних каналів у ядерних мембранах цих типів клітин.

Слід відмітити, що піпекуронію та рокуронію броміди належать до курареподібних речовин, вони мають спільні елементи у хімічній структурі. Зокрема, обидві молекули є азотовмісними полігетероциклічними сполуками, містять карбонільні групи: рокуроній – 1, піпекуроній – 2, чим можна пояснити аналогічність їх ефектів. Незважаючи на подібний з тубокурарином механізм впливу на н-холінорецептори, хімічна структура рокуронію та піпекуронію має суттєві відмінності від структури тубокурарину. На відміну від нього, що належить до групи бензилізохінолінових речовин, вони відносяться до аміностероїдів з амінозаміщеним стероїдним кільцем. Крім цього, молекула тубокурарину є значно більшою, чим можна пояснити ефективніше блокування каналу. Але оскільки структура досліджуваних нами LCC-каналів досі залишається невідомою, складно зробити висновок про механізм такого впливу. Однак можна припустити, що ефект цих речовин спричинений частковим блокуванням пори LCC-каналу механічним способом, про що свідчить поява характерного «миготіння», тобто дуже швидких послідовних спроб закривання та відкривання каналу (позначено на рис. 1 стрілкою).

Дія речовин на іонні канали одного типу може сильно відрізнятися між собою, як і вплив однієї речовини на однотипні канали, експресовані в різних тканинах. Наприклад, досліджувані речовини у концентрації 0,2 ммоль/л зменшували середню амплітуду струму через LCC-канали на 7% (рокуронію

бромід), 12% (піпекуронію бромід) і 50% (нікотин). Фармакологічна чутливість LCC-каналів ядерних мембран нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів є майже ідентичною, що свідчить про наявність єдиної популяції цих каналів у досліджуваних об'єктах. З'ясування таких закономірностей може стати ключем для подальшого пошуку й ідентифікації більш ефективних та специфічніших блокаторів LCC-каналів.

Таким чином, послідовність ефективності інгібування виглядає так: d-тубокурарин  $\approx$  нікотин > дитилін  $\approx$  атракуріум  $\approx$  піпекуронію бромід > рокуронію бромід. Зважаючи на отримані результати, можна стверджувати, що нікотин і d-тубокурарин залишаються найбільш перспективними інструментами для подальшого застосування при дослідженні фізіологічної ролі LCC-каналів.

*Автори висловлюють щире подяку академіку Марині Володимирівні Скок за надання лігандів нікотинових холінорецепторів і консультаційну допомогу; пану Шота Хаджишвілі за часткове фінансування проекту; Наталії Павловій, Ользі Тарнопольській і Діані Нечепуренко за асистування під час проведення експериментів.*

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

**А. Б. Котлярова, Е. А. Котик, И. В. Юришинец,  
С. М. Марченко**

#### **ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ КАТИОННЫХ КАНАЛОВ БОЛЬШОЙ ПРОВОДИМОСТИ ЯДЕРНОЙ МЕМБРАНЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ МОДУЛЯТОРОВ НИКОТИНОВЫХ ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ**

В ядерных мембранах нейронов и кардиомиоцитов в значительном количестве экспрессируются катионные

канали большой проводимости (LCC-каналы). С помощью электрофизиологической регистрации токов сквозь внутреннюю ядерную мембрану нейронов Пуркинье мозжечка и кардиомиоцитов мы проверили влияние на LCC-каналы ряда модуляторов (активаторов и ингибиторов) н-холинорецепторов. Среди исследованных нами веществ выраженное влияние имели рокурония и пипекурония бромиды, а также никотин. Фармакологическая чувствительность LCC-каналов ядерных мембран нейронов Пуркинье мозжечка и кардиомиоцитов почти идентичны, что свидетельствует о наличии единой популяции этих каналов в исследуемых объектах. У концентрации 0,2 ммоль/л никотин вдвое уменьшал амплитуду тока через LCC-каналы, в то время как рокурония бромид и пипекурония бромид в такой же концентрации ингибировали на 7 и 12% соответственно. Следовательно, среди перечисленных веществ только никотин действует на LCC-каналы с эффективностью, близкой к воздействию ранее исследованного нами тубокурарина, соответственно именно они остаются наиболее перспективными для дальнейшего применения в качестве инструмента при исследовании физиологической роли этих каналов.

Ключевые слова: ядерная мембрана; LCC-каналы; н-холиноблокаторы; агонисты н-холинорецепторов; пипекурония бромид; рокурония бромид; гексаметоний; метилликаконитин (MLA);  $\alpha$ -конотоксин PeIA; PNU 282987; никотин.

**A. B. Kotliarova, O. A. Kotyk, I. V. Yuryshynets,  
S.M. Marchenko**

## THE FUNCTIONING OF LARGE CONDUCTANCE CATIONIC CHANNELS IN THE NUCLEAR MEMBRANE OF CARDIOMYOCYTES AND CEREBELLAR PURKINJE NEURONS UNDER THE INFLUENCE OF NICOTINIC CHOLINORECEPTORS MODULATORS

Large conductance cationic channels (LCC-channels) are highly expressed in the nuclear envelope of neurons and cardiomyocytes. Using electrophysiological registration of ion currents through the inner nuclear membrane of cardiomyocytes and cerebellar Purkinje neurons, we have tested the effect of n-choline receptor modulators (activators and inhibitors) on LCC-channels. Among the substances tested, rocuronium- and pipercuronium-bromide and nicotine proved to be effective. The pharmacological sensitivity of LCC-channels in Purkinje neuron and cardiomyocyte nuclear membranes was almost identical, indicating existence of a single population of these channels in the tissues studied. At a concentration of 0.2 mM nicotine reduced in half the current through LCC-channels, while rocuronium- and pipercuronium-bromide at the same concentration inhibited these channels by 7 and 12 % respectively. Therefore, among the listed

substances, only the effect of nicotine on LCC-channels was close to the effect of previously studied tubocurarine, that's why tubocurarine and nicotine remain the most promising tools for further investigation of the physiological role of these channels.

Key words: nuclear membrane, LCC-channels, n-cholinoreceptor inhibitors, agonists of n-cholinoreceptors, pipercuronium bromide, rocuronium bromide, hexamethonium, methyllycaconitine (MLA),  $\alpha$ -conotoxin PeIA, PNU 282987, nicotine.

*O.O. Bogomolets Institute of Physiology, NAS of Ukraine, Kyiv; e-mail: annkotliarova@gmail.com*

## REFERENCES

1. Mauger JP. Role of the nuclear envelope in calcium signalling. *Biol Cell*. 2012 Feb;104(2):70-83.
2. Marchenko SM, Thomas RC. Nuclear  $Ca^{2+}$  signalling in cerebellar Purkinje neurons. *Cerebellum*. 2006 Mar;5(1):36-42.
3. Marchenko SM, Yarotsky VV, Kovalenko TN, Kostyuk PG, Thomas RC. Spontaneously active and  $InsP_3$ -activated ion channels in cell nuclei from rat cerebellar Purkinje and granule neurones. *J Physiol*. 2005 Jun;565(3):897-910.
4. Matzke AJM, Weiger TM, Matzke M. Ion channels at the nucleus: electrophysiology meets the genome. *Mol Plant*. 2010 Jul;3(4):642-52.
5. Kotyk OA, Kotliarova AB, Polishchuk AO, Marchenko SM. Single-channel ion currents in the nuclear envelope of rat cardiomyocytes. *Fiziol Zh*. 2016;62(6):3-8. [Ukrainian].
6. Lunko OV, Grushkovska IV, Lun'ko OO, Marchenko SM. Effect of tubocurarine on large-conductance cationic channels in the inner nuclear membrane of Purkinje neurons of the rat cerebellum. *Neurophysiology*. 2016 Oct;48(5):332-5. [Ukrainian].
7. Kotyk OA, Kotlyarova AB, Pavlova NI, Marchenko SM. Effects of blockers of large-conductance cation channels of the nuclear membrane. *Neurophysiology*. 2017 Apr;49(2):151-3. [Ukrainian].
8. Kotyk OA, Kotliarova AB, Marchenko SM. Optimization of the method of nuclei isolation for electrophysiological studies of ion channels in the nuclear membrane of the rat cardiomyocytes. *Fiziol Zh*. 2018;64(2):26-33.
9. Skok VI. Nicotinic acetylcholine receptors in autonomic ganglia. *Auton Neurosci*. 2002 Apr;97(1):1-11.
10. Kárpáti E, Bíró K. Pharmacologic effects of pipercuronium bromide (Arduan). *Acta Pharm Hung*. 1992 May; 62(3): 121-6. [Hungarian].
11. Bowman WC. Neuromuscular block. *Br J Pharmacol*. 2006 Jan; 147 (Suppl 1):277-86.
12. Wonnacott S. Nicotinic ACh receptors. *Toxcris Rev*. 2014;1-32.
13. Absalom NL, Quek G, Lewis TM, Qudah T, Arenstorff I, Ambrus JI. Covalent trapping of methyllycaconitine at the  $\alpha 4$ - $\alpha 4$  interface of the  $\alpha 4\beta 2$

- nicotinic acetylcholine receptor. J Biol Chem. 2013 Sep; 288(37):26521-32.
14. Daly NL, Callaghan B, Clark RJ, Nevin ST, Adams DJ, Craik DJ. Structure and activity of  $\alpha$ -conotoxin PeIA at nicotinic acetylcholine receptor subtypes and GABA<sub>B</sub>-receptor-coupled N-type calcium channels. J Biol Chem. 2011 Mar;286(12):10233-7.
  15. Bürgi JJ, Awale M, Boss SD, Schaer T, Marger F, Viveros-Paredes JM et al. Discovery of potent positive allosteric modulators of the  $\alpha 3\beta 2$  nicotinic acetylcholine receptor by a chemical space walk in ChEMBL. ACS Chem Neurosci. 2014 May;5(5):346-59.
  16. Gergalova GL, Skok MV. Nicotine effects on mitochondria membrane potential: participation of nicotinic acetylcholine receptors. Ukr Biochem J. 2011;83(5):13-21. [Ukrainian].
  17. Skok M, Gergalova G, Lykhmus O, Kalashnyk O, Koval L, Uspenska K. Nicotinic acetylcholine receptors in mitochondria: subunit composition, function and signalling. Neurotransmitter. 2016;3(e1290):1-12.

*Матеріал надійшов  
до редакції 12.09.2019*