

О.П. Костюк, В.О.Пінченко, П.Г. Костюк

Патологічні зміни потенціалзалежних кальцієвих каналів у сенсорних нейронах

В обзоре рассмотрено структуру и функцию высокопороговых и низкопороговых потенциалзависимых кальциевых каналов в сенсорных нейронах. Особенное значение обращено на сравнение функции этих каналов в норме и в процессе развития патологических изменений. Особенный акцент сделан на рассмотрении значения низкопороговых потенциалзависимых T-типа кальциевых каналов при таких формах патологии, как проведение боли, ацидоз и алкалоз в связи с тем, что характер синаптической передачи обусловленной этими формами патологических изменений наиболее интенсивно меняется при нарушении функции и структуры именно этих каналов. При изучении высокопороговых потенциалзависимых кальциевых каналов наибольшее значение сконцентрировано на изучении нарушения функции N-типа потенциалзависимых кальциевых каналов.

Загальна характеристика кальцієвих каналів і струмів. Основою життєдіяльності всіх клітин є нерівномірний розподіл іонів між зовнішньо- та внутрішньоклітинним середовищем. Ця нерівномірність підтримується метаболічними та іон-транспортними системами, що використовують для цього розподілу внутрішньоклітинні джерела енергії (АТФ) та потенціали дії, що надходять. Асиметрія розподілу металів іонів, таких як натрій, калій і кальцій є основою для збудження нейронів зовнішніми стимулами у вигляді деполяризації та генерації трансмембранних іонних струмів, що виникають завдяки відкриванню мембранних каналів. Значну роль у цьому процесі відіграють іони кальцію, оскільки вони є внутрішньоклітинними посередниками та регулюють такі процеси, як екзоцитоз, сенсорна передача, синаптична пластичність. Для виконання такої ролі дуже велике значення має вміст кальцію в цитозолі нейронів, що керується переважно внаслідок

активності кальцієвих потенціал- та рецепторкерованих каналів, чіткості взаємодії внутрішньоклітинних кальційрегуляторних структур (ендоплазматичний ретикулум, мітохондрії, кальцієві обмінники та кальцієві АТФ). Будь-які зміни у цих процесах можуть призвести до суттєвого порушення функції нейронів і навіть апоптозу.

Основна пороутворювальна α -субодиниця потенціалзалежного кальцієвого каналу є структурою, що складається з 6 трансмембранних сегментів, які «прошивають» ліпідну мембрану. Серед них – сегмент S4, що відповідає за потенціалзалежне керування. α_1 -Субодиниця утворює пору, через яку Ca^{2+} надходять у нейрон та «ворота», які можуть відкривати та закривати цю пору. Інші субодиниці, що входять до складу каналу відіграють переважно додаткову роль ($\alpha_2\delta$, β та γ). Серед них β -субодиниця звернена у цитозоль клітини та може брати участь у деяких внутрішньоклітинних процесах.

© О.П. Костюк, В.О.Пінченко, П.Г. Костюк

Ворітні заряди перші сприймають деполяризаційну зміну мембранного потенціалу та переміщуючись, відкривають «ворота». Це переміщення може бути зареєстроване як «ворітний» струм, що був уперше продемонстрований незначним його компонентом, що виникає в одному напрямку перед виникненням основних струмів [25]. Загальний струм характеризується кінетикою, яка включає підвищення його амплітуди або активацію, зниження амплітуди – інактивацію та деактивацію, що настає внаслідок закривання каналів після реполяризації. Регулюється ця кінетика деполяризації, характерною для того чи іншого каналу.

Існує велика група кальційпровідних каналів, до яких належать як високо- (L-, N-, R-, P/Q-типи) і низькопорогові (T-тип) потенціалкеровані кальцієві канали, так і рецепторзалежні кальцієві канали (NMDA, AMPA та каїнатні канали). Потенціалкеровані високопорогові кальцієві канали починають активуватися при деполяризації мембрани близько -40 мВ, а низькопорогові – при потенціалі близько -70 мВ. Канали відрізняються за субодиничним складом, селективністю, провідністю поодинокого каналу, потенціалзалежністю, кінетикою активації та інактивації інтегрального кальцієвого струму. L-тип каналів ($Ca_v1.1-4$) – найбільш чутливий до дигідропіридинів, які є їх блокаторами, N-тип ($Ca_v2.2$) – найбільш чутливий до ω -конотоксину, P/Q-тип ($Ca_v2.1$) – до ω -агатоксину, а T-тип каналів ($Ca_v3.1-3$) найбільш – до Ni^{2+} , La^{2+} , мібефрадилу та частково до дигідропіридинів. Слід також зазначити, що серед кальційпровідних каналів істотне значення мають так звані CICR кальцієві канали (кальцієві канали індукованого вивільнення Ca^{2+}) ендоплазматичного ретикула. Суттєву роль також відіграють кальційзалежні калієві струми.

Загалом високопорогові кальцієві канали активуються швидко (залежно від субодиничного складу) та повільно інакти-

вуються, в той час як активація низькопорогових каналів прискорюється з підвищенням деполяризації, а інактивація відбувається швидко [23]. Певне значення може також мати час знаходження потенціалзалежних каналів у відкритому стані [28]. Додатковою регуляторною ланкою можуть бути локалізовані на внутрішній поверхні мембрани білкові молекули, що зв'язують гуанозинтрифосфат (GTP) – так звані G-білки, а також їх аналоги $GTP\gamma S$ і $GTP\beta S$, які здатні активувати чи пригнічувати утворення циклічних фосфатів скороченим або інтрамембранним шляхом і прямо взаємодіяти з каналними молекулами [44], наприклад через зв'язування з внутрішньоклітинними протеїнами [10], викликаючи конформаційні зміни або зв'язування каналів з різними внутрішньоклітинними протеїнами. При цьому L-тип каналів відзначається високою чутливістю до кальмодуліну на відміну від N- та T-типів. При підсиленні активації каналів і подовженні струмів клітина переповнюється Ca^{2+} , що може призводити до зміни синаптичної передачі та апоптозу. Різниця в рівні активації та інактивації кальцієвого струму найбільш суттєво залежить від α_1 -субодиниці та функції допоміжних β -субодиниць. Останнім часом показано, що β -субодиниця також може самостійно регулювати функцію кальцієвих каналів, наприклад кальцієвих каналів N-типу.

Встановлено, що активація та інактивація кальцієвих каналів може також залежати від кількох дуже суттєвих внутрішньоклітинних факторів.

Фосфорилування сприяє активації, в той час як дефосфорилування кальцієвих каналів істотно знижує їх функцію [13]. Ця особливість не зникає навіть за наявності таких протеїнів, як кальмодулін або синаптотажмін у цитозолі. Молекулярні механізми модуляції кальцієвих каналів за допомогою їх фосфорилування та дефосфорилування поки що до кінця не з'ясовано.

Зрозуміло, що фосфатні групи можуть приєднуватися до тих макромолекул, які спрямовані в бік цитоплазми та мають достатній розмір. Проте не зовсім зрозуміло, які саме конформаційні зміни відбуваються при цьому в структурі каналу. Швидше за все вони спричиняють в основному кінетичні зміни – подовження періоду відкритого стану каналу в разі його активації. Провідність каналу при цьому не змінюється, але точні механізми такого впливу недостатньо досліджені [23].

Ще одним суттєвим механізмом, що може регулювати функцію потенціалзалежних кальцієвих каналів є кілька метаболічних ланцюгів. Найважливішим є метаболічний ланцюг, пов'язаний з активацією циклічного амінофосфату (цАМФ). Наприклад, підсилювальний ефект цАМФ на високотривалі потенціалзалежні P/Q-канали було знайдено у ооцитах *Xenopus*.

Другим таким ланцюгом є процес утворення протеїнкінази С (PKC) – ферменту-мішені діацилгліцеролу. Звичайно всі описані механізми не можуть повністю «залучати або вилучати» процеси активації та інактивації потенціалкероаних кальцієвих каналів [54, 59].

Високотривалі кальцієві канали дуже чутливі до їх «розриву» з внутрішньоклітинними процесами. Якщо клітини перфузувати сольовим розчином кальцієві канали дуже швидко переходять у стан «мовчання» (gun-down). Водночас низькотривалі кальцієві канали можуть продовжувати працювати навіть в ізольованому мембранному сегменті, що чітко показано при використанні методики «patch-clamp» [24].

Для визначення селективності, провідності та властивостей каналів у розчинах часто застосовується 60 ммоль/л Ba^{2+} , який не є внутрішньоклітинним посередником, але добре проходить крізь кальцієві канали, не активуючи внутрішньоклітинні процеси, що можуть впливати на їх функцію. За його допомогою вивчали основні властивості

поодиноких кальцієвих каналів. Середнє значення провідності поодиноким каналом для Ba^{2+} становить 18,4 пкСм для високотривалі каналів та 7,2 пкСм для низькотривалі каналів [26]. Проте проникність поодинокіх каналів може суттєво відрізнятися від середньої провідності всіх кальцієвих каналів. Така властивість поодинокіх каналів дуже характерна для високотривалі кальцієвих каналів [1]. Цікаво, що при аналізі активності поодинокіх каналів іони, як блокатори, можуть надходити та залишати «ворота» каналів у такому стані, що канал починає флуктувати між повністю відкритим положенням і закритим. Кальцієвий струм, що переноситься поодинокими кальцієвими каналами, близький до 0,1 пА, що відповідає умовній внутрішньоклітинній концентрації Ca^{2+} близько 10^{-8} моль/л [1].

Зміна функцій низькотриваліх потенціалзалежних кальцієвих каналів при виникненні патологічних станів. Будь-яка зміна властивостей кальцієвих каналів може призводити до патологічних процесів. Одним з найпоширеніших порушень функції кальцієвих потенціалзалежних каналів та їх ролі у патології є порушення ноцицептивної передачі (наприклад, при запаленні чи діабетичній нейропатії), починаючи від нейронів задньокорінцевих гангліїв та закінчуючи верхніми центральними структурами нервової системи (спіноталамічний ноцицептивний шлях). У розвитку больового процесу також може мати суттєве значення зміна чутливості до температури, хімічних, механічних і больових подразників. У таких процесах можуть безпосередньо брати участь TRPV1-канали з TRP-родини.

На периферичному рівні нейрони малого та середнього розмірів проводять больові сигнали з різною інтенсивністю та швидше за все по-різному реагують на больові чинники. Це може бути зумовлено зміною структури каналів (конформаційні зміни), їх провідністю для Ca^{2+} , зміною рецепторів,

які відкривають їх «ворота» або приймають сенсорний сигнал. Крім того, часто відмічають зниження вихідних кальційактивованих калієвих струмів. Цікаво, що з підвищенням нейронального збудження знижувалась активність таких каналів, з якими Т-тип каналів може бути функціонально пов'язаним.

На рівні сенсорних периферичних нейронів, що потім передають сигнали на таламус (латеральна таламокортикальна система), мабуть найсуттєвіше значення мають високопорогові кальцієві канали N, L та Т-тип низькопорогових кальцієвих каналів. Останні складаються з $Ca_v3.1$ -, $Ca_v3.2$ -, $Ca_v3.3$ - α_1 -субодиниць. Усі ці канали відрізняються за рівнем їх експресії в різних тканинах (наприклад L- та Т-типи потенціалзалежних каналів переважають у малих ноцицептивних нейронах). Субодиниці Т-типу каналів різні мають властивості, що також може мати для значення проведення больових сигналів. Так підтип Т-типу каналів $Ca_v3.2$ найбільш чутливий до нікелю, в той час як $Ca_v3.3$ – до куротоксину. Т-типи кальцієвих каналів ($Ca_v3.2$ та 3.3) мають суттєве значення у модулюванні процесів нейронального збудження. На рівні периферичних нейронів і спинного мозку $Ca_v3.2$ ізоформа Т-типу кальцієвих низькопорогових каналів відіграє найбільш значну роль у проведенні больової сигналізації [53]. Переважна експресія цього типу Т-каналів виявлена також у вторинних нейронах, з якими первинні ноцицептивні нейрони утворюють синаптичні контакти та які розташовані в дорсальних ламінах дорсального рогу спинного мозку. Активність такого підтипу Т-каналів сприяє підвищенню внутрішньоклітинного вмісту Ca^{2+} і генерації постсинаптичних потенціалів, збільшенню тривалості потенціалів дії та зниженню порога їх активації.

Відомості про зміни функцій усіх трьох типів кальцієвих каналів суперечливі. Так, Hall та співавт. [16] було показано підви-

щення високопорогових кальцієвих струмів, при відсутності змін з боку низькопорогових кальцієвих струмів при діабетичній нейропатії. McCallum відмітив, що при нейропатії відбувається суттєве зниження активації Т-типу кальцієвих каналів, при цьому такі зміни больових сигналів не передаються на сусідні неушкоджені нейрони [31].

Згідно з літературними даними [55, 58], при хронічному больовому синдромі відмічаються підвищення експресії Т-типу кальцієвих каналів і збудливості клітинної мембрани, а також патологічні ектопічні розряди. З'ясовано, що експресія низькопорогових кальцієвих потенціалзалежних каналів у аферентних нейронах може змінюватися у відповідь на ушкодження нервів і що тип нервового ушкодження впливає на сенсорну передачу, зумовлену Т-типом кальцієвих каналів. При перерізі або хронічному стисканні нервів струми можуть підсилюватися [27]. Такі зміни найбільш характерні для нейронів середнього та малого розмірів. Локальне введення таких інгібіторів Т-типу каналів, як мібефрадилу нейроактивні стероїди та етосуксимід призводило до зниження больової чутливості, що виникала внаслідок лігатурного перев'язування нервів. Це вказує на те, що активація Т-типу низькопорогових кальцієвих каналів може відігравати суттєву роль у гіперчутливості ноцицепторів до больових подразників.

Дуже цікавим були й результати, отримані при дослідженні діабетичних нейропатій. На самому початку досліджень Hall та співавт. [16] показали, що Т-струми при цукровому діабеті не підлягають блокаді Ni^{2+} . Це спонукало дослідників до думки, що, можливо, при цукровому діабеті з'являється специфічний тип Т-каналів з іншими властивостями, ніж традиційні низькопорогові канали. Такі результати були переважно отримані на задньокорінцевих нейронах малого розміру.

При деполяризації мембранного потен-

ціалу кальцієві канали Т-типу інактивуються. У тварин з експериментальним цукровим діабетом зсув кривої інактивації відбувається у бік деполяризації, тобто ці канали менш інактивуються. Крім того, у нейронах тварин з діабетом при потенціалі -60 мВ збільшувалася слідова гіперполяризація, що може призводити до появи пачкової активності нейронів. Прикладання нікелю посилювало таку активність [19]. При його наявності різниці у пачкових розрядах у контрольних і тварин з діабетом не спостерігалось. Це говорить про те, що саме Ni^{2+} -чутливі Т-канали відповідають за посилення пачкових розрядів. Ці дослідження проводили переважно на нейронах периферичних гангліїв середнього розміру. При хронічному больовому синдромі відмічалось підвищення збудливості клітинної мембрани та ектопічні больові розряди. Ці процеси відбуваються більш істотно у нейронах дорсальних гангліїв.

Усі згадані фактори будуть призводити до швидкого розвитку змін больової чутливості з участю Т-типу кальцієвих каналів і змін виділення нейротрансмітерів, субстанції Р, кальцитонін-генрегулювального пептиду, простагландинів, брадикініну.

Choi та співавт. [6] при дослідженні мишей, що характеризувалися ноцицептивними реакціями з “вбитим” геном $Ca_v3.2$ і мали нормальну локомоцію і координацію, показали, що у них знижена відповідь на механічні, температурні, хімічні та больові подразники шкіри. Це підкреслює проноцицептивну роль ізоформи $Ca_v3.2$ на периферії. При лігатурній моделі таких мишей суттєвої різниці з дикими мишами виявлено не було. Надалі також було проведено дослідження мембранного потенціалу у мишей з «вбитим» геном $Ca_v3.1$ порівняно з дикими мишами, які показали, що у цьому разі виникають поодинокі «спалахи» синаптичної передачі. Всі дослідження доводять, що Т-тип кальцієвих каналів може бути задіяний у передачі больових синдромів.

Больові сигнали найбільш істотно передаються через ноцицептивні нейрони дорсальних гангліїв. Наприклад, у нейронах середнього розміру, що характеризуються підвищеною експресією Т-каналів, з'являлася підвищена чутливість до капсаїцину, механізми якої до кінця не з'ясовані [19]. Також було показано, що новий опіоїд ноцицептин, що ефективно усуває біль, блокує переважно Т-канали у нейронах середнього розміру з ізоформою $Ca_v3.2$. Ці канали подавлялися опіодами тільки, якщо модуляція відбувалася через G_i -білки [15].

Т-тип низькопорогових кальцієвих каналів був також досліджений у задньокорінцевих нейронах великого розміру. Згідно з літературними даними [42] у нейронах великого діаметра незначний, або зовсім відсутній рівень експресії Т-каналів, тобто при невеликій деполяризації ці струми не активувалися. За результатами наших досліджень Т-струми у нейронах великого розміру взагалі відсутні.

Суттєву експресію Т-каналів було виявлено у нейронах середнього та малого розмірів [39]. У нейронах середнього розміру вони мали найвищу амплітуду, навіть у порівнянні з нейронами малого розміру, але пояснити це явище на даному етапі досліджень не є можливим.

Блокатор Т-типу низькопорогових кальцієвих каналів мібефрадил може суттєво модулювати механічні та термальні больові сигнали, зумовлені активністю Т-типу кальцієвих каналів [50]. Така блокада Т-типу низькопорогових кальцієвих каналів мало потенціалзалежна, що є специфічним саме для низькопорогових каналів. Водночас в антиноцицептивних дозах мібефрадил не впливає на діабетичну нейропатію. Ще однією цікавою їх рисою була підвищена чутливість до блокатора амілориду [36]. Можливий також зв'язок між капсаїцином і Т-типом низькопорогових каналів [14, 18, 56]. Таким чином, канали Т-типу можуть мати суттєве значення у подальшій розробці

антиноцицептивних речовин [33, 34].

Цікаво, що у центральних таламічних нейронах найбільш експресується не $Ca_v3.2$ -ізоформа Т-типу низькопорових каналів, а $Ca_v3.1$. Цей тип ізоформи Т-каналів у разі їх розташування у ретикулярному ядрі таламуса сприяє проведенню швидких струмів у сомі. Кальцієві Т-струми у дендритах характеризуються повільною кінетикою та пов'язані з $Ca_v3.3$ -ізоформою цих каналів [20, 35]. На відміну від периферичних і спінальних нейронів, при ноцицептивних патологічних синдромах спостерігалось зменшення активності цих каналів. Підвищена активність гальмівних ГАМК нейронів створює хвилі гиперполяризації, що сприяє пачковій активності нейронів, в якій беруть участь кальцієві Т-канали $Ca_v3.2$ [4]. Така осциляторна активність характерна для процесів сну, і посилення больових синдромів може порушити його. Можливо на цьому рівні Т-канали відіграють антиноцицептивну роль [21, 40].

При фармакологічній блокаді таламічних каналів типу $Ca_v3.1$ зменшується чутливість до больових стимулів [22]. Однак є дані про те, що Т-тип каналів знижує або не проводить больову сигналізацію після ушкодження нервів при запаленні, а також полегшує процеси, пов'язані з хронічними больовими явищами, що передаються аферентними шляхами [37].

Таким чином, можна припустити, що Т-тип кальцієвих каналів може відігравати антиноцицептивну роль при больовому збудженні таламуса. З іншого боку, на периферичному рівні Т-тип каналів посилює больову провідність, включаючи підвищення процесів сенситизації і збудження ноцицепторів. Переважно цю роль відіграє ізоформа $Ca_v3.2$, що характеризується швидкою кінетикою інактивації кальцієвих струмів. Такі результати підкреслюють участь Т-типу низькопорогових кальцієвих каналів у передачі порушень ноцицептивної активності.

Вплив кислотно-лужного балансу на ноцицепцію. В свіжоізолюваних і культивованих нейронах гіпокампа зони СА1 п'ятидесятихвилинна аноксія викликає первинну ацидифікацію з послідовним відновленням рівня рН і наступною алкалінізацією [8, 43].

Ці зміни кислотно-лужного балансу можуть бути викликані гіпоксією та/або гіперглікемією, що може призводити до функціональних змін кислотно-лужних транспортерів та обмінників, які насамперед впливають на кальцієвий гомеостаз. Зміни в фізіологічному діапазоні рН можуть бути сигналом для передачі інформації на периферичні структури і в зворотному напрямку. Незначний ацидоз сприяє гальмівному ефекту на кальцієві струми через NMDA, AMPA-рецепторкеровані канали та потенціалчутливі кальцієві канали. З точки зору деяких дослідників це може викликати нейропротекторну дію внаслідок зменшення надходження кальцію в клітину при гіпоксії. Однак є відомості, що сильний або навіть слабкий ацидоз є нейротоксичним фактором. Наприклад, у культивованих зрізах гіпокампа слабка ацидифікація до рівня рН 6,5 викликала депресію синаптичної активності та ранній некроз або апоптоз нейронів [9, 57]. Ці дані підкреслюють, що низький рН може порушувати кальцієвий гомеостаз при гіпоксії чи гіперглікемії. На основі цих спостережень Anderson і Meyer [3] використовували лужні агенти для превентивних ін'єкцій експериментальним тваринам до індукування у них ішемії. В результаті цих досліджень було показано, що підвищення рН зменшує пошкодження нейронів при фокальній церебральній ішемії. Для пояснення токсичної дії ацидозу було запропоновано декілька механізмів: ацидоз може сприяти утворенню вільних радикалів [29] та пригніченню вироблення АТФ мітохондріями [17]. Крім того, ацидоз підвищує нейротоксичний ефект, що може бути опосередкований AMPA-рецепторзалежними та низькопороговими потенціал-

керуваними кальцієвими каналами [32].

У праці Talavera та співавт. [47] висувається припущення, що протони та кальцій впливають на низькопорогові кальцієві канали Т-типу внаслідок двох механізмів. По-перше, обидва іони зсувають потенціал-залежність кінетичних кривих, нейтралізуючи негативні поверхневі заряди. По-друге, іони кальцію не дають протонам блокувати активацію кальцієвого каналу. Наприклад, при діабетичній нейропатії зовнішньоклітинна ацидифікація та деполяризація нейронів призводить до одночасного зсуву кривих активації та інактивації, тобто зсуву так званого «window-струму» за віссю потенціалів у бік зміни потенціалу спокою нейронів. Це свідчить про те, що хоча протони і зменшують активацію Т-каналів, вхід кальцію через них може залишатися на тому самому рівні, що і до ацидифікації. З іншого боку, різна дія протонів на властивості активації та інактивації, а також зсув селективності каналів у бік моновалентних катіонів в деяких випадках може бути захисним механізмом від перенавантаження нейронів іонами кальцію.

Відомо, що первинні сенсорні нейрони мають щонайменше два типи низькопорогових кальцієвих каналів. Ці канали відрізняються між собою рН-чутливістю та кінетичними властивостями. Ми виявили, що нейрони задньокорінцевих гангліїв з малим діаметром соми мають переважно низькопорогові канали зі слабкою рН-чутливістю, в той же час як нейрони середнього діаметра соми – з сильною. Також було показано, що канали зі слабкою рН-чутливістю мають більш повільну кінетику інактивації та деактивації, ніж канали з сильною рН-чутливістю [39].

Різними авторами було показано, що нейрони задньокорінцевих гангліїв експресують α_{1H} - та α_{1L} -субодиниці низькопорогових кальцієвих каналів. Для виявлення можливого складу α_{1L} -субодиниць ми порів-

няли результати наших досліджень з даними інших дослідників [7, 48]. Було показано, що нативні кальцієві канали Т-типу з високою рН-чутливістю схожі з рекомбінантними каналами $Ca_v3.2$ -типу за кінетичними характеристиками та впливом зовнішньоклітинної ацидифікації на потенціал половинної інактивації. Нами не знайдено публікацій стосовно впливу зовнішньоклітинного рН на клоновані канали $Ca_v3.3$. У наших дослідах кінетика інактивації нативних каналів Т-типу зі слабкою рН-чутливістю близька до кінетики інактивації рекомбінантних каналів $Ca_v3.3$, але кінетика деактивації нативних каналів була набагато повільнішою. Також показано, що збільшення тривалості деполяризації призводить до сповільнення подальшої деактивації, що корелює з даними, отриманими Wagge та співавт. на рекомбінантних каналах $Ca_v3.3$ -типу [52]. Крім того, кінетика деактивації струмів через Т-канали зі слабкою рН-чутливістю краще апроксимувалися сумою двох експонент. Frazier та співавт. [12] показали, що кінетика деактивації клонованих каналів $Ca_v3.3$ не може бути достатньо адекватно апроксимована однією експонентою але добре апроксимується двома. Беручи до уваги, що нейрони задньокорінцевих гангліїв експресують в основному $Ca_v3.2$ та $Ca_v3.3$ мРНК [49], можна припустити, що на роль α_{1L} -субодиниці (основної пороутворювальної субодиниці) в каналах з сильною рН-чутливістю, тобто в нейронах середнього розміру соми, найбільш підходить $Ca_v3.2$, водночас для каналів з слабкою рН-чутливістю, тобто в нейронах малого розміру соми – $Ca_v3.3$.

Таким чином, при зміні лужно-кислотної рівноваги у бік ацидозу також змінюється активність низькопорогових потенціал-залежних кальцієвих каналів, що може призводити до зміни передачі ноцицептивних сигналів.

Зміна високوپорогових кальцієвих каналів при порушенні ноцицепції. Ще

одним малодослідженим високопороговим кальцієвим каналом, який вважається важливим для проведення сенсорної та больової чутливості є N-тип. За допомогою антитіл було показано, що велика кількість цих каналів сконцентрована у синаптичних закінченнях, що виділяють нейротрансмітери у сукупності з синтаксином, синаптогміном і SNAP-25 [2]. У спинному мозку пресинаптично розташовані кальцієві канали N-типу контролюють передачу ноцицептивної інформації. Цікаво, що лише α_1 - та α_2 -субодиниці сприяють підвищенню передачі больових сигналів [11], які надходять у синаптичні закінчення внаслідок ушкодження нервів або через запальні процеси і впливають на N-тип каналів. Це дає змогу припустити, що як на прес-, так і на постсинаптичному рівнях у спинному мозку N-тип каналів може мати важливе значення у контролюванні синаптичної передачі больових сигналів [5].

ω -Конотоксин селективно та з високою афінністю зв'язується з N-типом кальцієвих каналів і селективно блокує їх. Він призупиняє іонну проникність та може порушувати внутрішньоклітинну кальцієву концентрацію, що необхідна для викликання екзоцитозу. В спинному мозку цей інгібітор пригнічує виділення ноцицептивних нейротрансмітерів і нейромодуляторів у периферичних, центральних та аферентних нейронах [41]. Таким чином, він знижує ноцицептивні електричні стимули в нейронах дорсального рогу нормальних щурів або щурів з ушкодженими нервами. Більше того, в моделях ушкодження нервів або запальних процесах введення його знижує передачу механічних, хімічних, термальних стимуляцій з пригніченням болі.

Нокаутні миші без вказаних субодиниць кальцієвих каналів підкреслили риси їх N-типу [46]. У порівнянні з дикими гомозиготні миші проявляють суттєву резистентність до розвитку гіпералгезії та алодонії, що супроводжує як ушкодження нервів, так і передачу больових синдромів при активації

N-типу кальцієвих каналів [51].

Високопорогові канали також можуть сприяти порушенню больової передачі та бути об'єктом для розробки антиноцицептивних препаратів. На первинних аферентних нейронах мишей показано, що блокатор N-типу – конотоксин зменшує реакцію на формаліновий тест у щурів. При цьому було виявлено несподіваний вплив амлодипіну (блокатора L-типу кальцієвих каналів) на активність N-типу каналів. За допомогою формалінового тесту було показано, що амлодипін впливає на обидві його фази при блокуванні L-типу каналів, а при блокуванні N-типу каналів лише на пізню його фазу. Деякі автори [36, 60] вважають, що виявлений ними феномен характерний для запальних явищ. З їх точки зору амлодипін є єдиним препаратом з блокаторів L-типу високопорогових кальцієвих каналів, що має такий ефект, оскільки при застосуванні нікардипіну його не виявлено.

Дещо пізніше було помічено, що у розвитку гострої соматосенсорної передачі больового сигналу можуть також мати значення високопорогові потенціалзалежні P/Q-канали. Вперше доказ такого можливого шляху передачі болю показано на мишах лінії tg^{1a}/tg^{1a} . При їх дослідженні було виявлено зниження механочутливості та підвищення термочутливості. При електрофізіологічному аналізі виявилось, що у таких мишей з патологією P/Q-каналів є тенденція до виникнення потенціалів дії у нейронах корінців дорсальних гангліїв, що може сприяти розвитку функціональної недостатності у больових шляхах спинного мозку [38]. У попередніх дослідженнях доведено, що переважна локалізація цих каналів знаходиться на соматодендритних мембранах і пресинаптичних терміналях у центральних і периферичних нейронів [14]. У цих мишей під дією блокатора P/Q-каналів ω -AgaTX не впливав на потенціал дії вентрального корінця відносно контрольних мишей, проте при наступному додаванні

блокатора N-типу кальцієвих каналів со-СТх-GVIA відмічалася повна блокада активності вендральних корінців. Можна припустити, що N-тип кальцієвих каналів загалом компенсує відсутній у лінійних мишей P/Q-компонент цих каналів [14].

Цікаво, що ГАМК-інтернейрони гальмують виникнення больових сигналів у цієї лінії мишей [30]. Проте останнє положення є дискутабельним.

Наведений огляд сучасних праць демонструє принципове значення кальцієвих каналів нейрональних мембран в генерації та проведенні процесів збудження та їх синаптичної передачі. Визначення цієї ролі кальцієвих каналів надзвичайно ускладнюються різноманітністю їх структури та експресії в різних ділянках нервових утворень. Відповідно порушення функції потенціалзалежних кальцієвих каналів відіграють важливу роль у виникненні та розвитку цілої низки невропатологічних станів. Тому надалі дослідження функції цих каналів має принципове як фундаментальне, так і прикладне значення, особливо для знаходження ефективних засобів впливу на їх функцію.

О.П. Kostyuk, V.O. Pinchenko, P.G. Kostyuk

PATHOLOGICAL CHANGES OF POTENTIAL ACTIVATED CALCIUM CHANNELS IN SENSORY NEURONS

The review considers the structure and function of high- and low-voltage potential activated calcium channels in sensory neurons. A special attention is paid to compression of the function of these channels in normal conditions and during development of pathological conditions. The role of low-voltage activated T-type calcium channels during such forms of pathology as neuropathy, acidosis and alkalosis because the changes in synaptic transmission occurring during these forms of pathological changes are most intensively altered during changes in functional structures of these type of channels. During studying of high-voltage activated calcium channels main attention has been concentrated on changes in the function of N-type potential activated calcium channels.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyev

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Костюк П.Г., Крышталь О.А. Механизмы электрической возбудимости нервной клетки. – М.: Наука, 1981. – 204. p.
2. Altier C., Dale C.S. Differential role of N-type calcium channel splice isoforms in pain // *J.Neurosci.* – 2007. – **27**. – P. 6363–6373.
3. Anderson R.E., Meyer F.B. Protection of focal cerebral ischaemia by alkalinization of systemic pH // *Neurosurgery.* – 2002. – **51**. – P. 1256–1265.
4. Aptel H., Hilaire C., Pieraut S. et al. The Cav3.2/alpha1H T-type Ca²⁺ current is a molecular determinant of excitatory effects of GABA in adult sensory neurons // *Mol.Cell Neurosci.* – 2007. – **36**. – P. 293–303.
5. Cao Y.Q. Voltage-ated calcium channels and pain // *Pain.* – 2006. – **126**. – P. 5–9.
6. Choi S., Na H.S., Kim J. et al. Attenuated pain responses in mice lacking Ca(V)3.2 T-type channels // *Gen.Brain Behav.* – 2007. – **6**. – P. 425–431.
7. Delisle B.P., Satin J. pH modification of human T-type calcium channel gating // *Biophys.J.* – 2000. – **78**. – P. 1895–1905.
8. Diarra A., Sheldon C., Brett C.L. et al. Anoxia-voked intracellular pH and Ca²⁺ concentration changes in cultured postnatal rat hippocampal neurons // *Neuroscience.* – 1999. – **93**. – P. 1003–1016.
9. Ding D., Moskowitz S.I., Li R. et al. Acidosis induces necrosis and apoptosis of cultured hippocampal neurons // *Exp.Neurol.* – 2000. – **162**. – P. 1–12.
10. Evans R.M., Zamponi G.W. Presynaptic Ca²⁺ channels-integration centers for neuronal signaling pathways // *Trends Neurosci.* – 2006. – **29**. – P. 617–624.
11. Field M.J., Cox P.J., Stott E. et al. Identification of the alpha2-elta-subunit of voltage-dependent calcium channels as a molecular target for pain mediating the analgesic actions of pregabalin // *Proc.Nat. Acad. Sci.USA.* – 2006. – **103**. – P. 17537–17542.
12. Frazier C.J., Serrano J.R., George E.G. et al. Gating kinetics of the alpha1I T-type calcium channel // *J.Gen.Physiol.* – 2001. – **118**. – P. 457–470.
13. Hadley R.W., Lederer W.J. Ca²⁺ and voltage inactivate Ca²⁺ channels in guinea-pig ventricular myocytes through independent mechanisms // *J.Physiol.* – 1991. – **444**. – P. 257–268.
14. Hagenacker T., Spletstoesser F., Greffrath W. et al. Capsaicin differentially modulates voltage-activated calcium channel currents in dorsal root ganglion neurones of rats // *Brain Res.* – 2005. – **1062**. – P. 74–85.
15. Hall K.E., Sima A.A., Wiley J.W. Opiate-mediated inhibition of calcium signaling is decreased in dorsal root ganglion neurons from the diabetic BB/W rat // *J.Clin.Invest.* – 1996. – **97**. – P. 1165–1172.
16. Hall K.E., Sima A.A., Wiley J.W. Voltage-dependent calcium currents are enhanced in dorsal root ganglion neurones from the Bio Bred/Worchester diabetic rat // *J.Physiol.* – 1995. – **486** (Pt 2). – P. 313–322.

17. Hillered L., Smith M.L., Siesjo B.K. Lactic acidosis and recovery of mitochondrial function following forebrain ischemia in the rat // *J.Cereb.Blood Flow Metab.* – 1985. – **5**. – P. 259–266.
18. Iftinca M., McKay B.E., Snutch T.P. et al. Temperature dependence of T-type calcium channel gating // *Neuroscience.* – 2006. – **142**. – P. 1031–1042.
19. Jagodic M.M., Pathirathna S., Nelson M.T. et al. Cell-specific alterations of T-type calcium current in painful diabetic neuropathy enhance excitability of sensory neurons // *J.Neurosci.* – 2007. – **27**. – P. 3305–3316.
20. Joksovic P.M., Bayliss D.A., Todorovic S.M. Different kinetic properties of two T-type Ca^{2+} currents of rat reticular thalamic neurones and their modulation by enflurane // *J.Physiol.* – 2005. – **566**. – P. 125–142.
21. Joksovic P.M., Brimelow B.C., Murbartian J. et al. Contrasting anesthetic sensitivities of T-type Ca^{2+} channels of reticular thalamic neurons and recombinant $Ca(v)3.3$ channels // *Brit. J.Pharmacol.* – 2005. – **144**. – P. 59–70.
22. Kim D., Park D., Choi S. et al. Thalamic control of visceral nociception mediated by T-type Ca^{2+} channels // *Science.* – 2003. – **302**. – P. 117–119.
23. Kostyuk P.G., Verkhratsky A.N. Calcium signalling in the nervous system. – Chichester, Wiley, 1995.
24. Kostyuk P.G., Lukyanetz E.A. Mechanisms of antagonistic action of internal Ca^{2+} on serotonin-induced potentiation of Ca^{2+} currents in Helix neurones // *Pflug. Arch.* – 1993. – **424**. – P. 73–83.
25. Kostyuk P.G., Krishtal O.A., Pidoplichko V.I. Asymmetrical displacement currents in nerve cell membrane and effect of internal fluoride // *Nature.* – 1977. – **267**. – P. 70–72.
26. Kostyuk P.G., Shuba Y., Savchenko A.N. Three types of calcium channels in the membrane of mouse sensory neurons // *Pflug. Arch.* – 1988. – **411**. – P. 661–669.
27. Lancaster E., Oh E.J., Gover T. et al. Calcium and calcium-activated currents in vagotomized rat primary vagal afferent neurons // *J.Physiol.* – 2002. – **540**. – P. 543–556.
28. Lansman J.B. Blockade of current through single calcium channels by trivalent lanthanide cations. Effect of ionic radius on the rates of ion entry and exit // *J.Gen.Physiol.* – 1990. – **95**. – P. 679–696.
29. Li P.A., Siesjo B.K. Role of hyperglycaemia-related acidosis in ischaemic brain damage // *Acta Physiol. Scand.* – 1997. – **161**. – P. 567–580.
30. Lin Q., Wu J., Willis W.D. Dorsal root reflexes and cutaneous neurogenic inflammation after intradermal injection of capsaicin in rats // *J.Neurophysiol.* – 1999. – **82**. – P. 2602–2611.
31. McCallum J.B., Kwok W.M., Sapunar D. et al. Painful peripheral nerve injury decreases calcium current in axotomized sensory neurons // *Anesthesiology.* – 2006. – **105**. – P. 160–168.
32. McDonald J.W., Bhattacharyya T., Sensi S.L. et al. Extracellular acidity potentiates AMPA receptor-mediated cortical neuronal death // *J.Neurosci.* – 1998. – **18**. – P. 6290–6299.
33. McGivern J.G. Pharmacology and drug discovery for T-type calcium channels // *CNS.Neurol.Disord.Drug Targets.* – 2006. – **5**. – P. 587–603.
34. McGivern J.G. Targeting N-type and T-type calcium channels for the treatment of pain // *Drug Discov. Today.* – 2006. – **11**. – P. 245–253.
35. McKay B.E., McRory J.E., Molineux M.L. et al. $Ca(V)3$ T-type calcium channel isoforms differentially distribute to somatic and dendritic compartments in rat central neurons // *Eur.J.Neurosci.* – 2006. – **24**. – P. 2581–2594.
36. Murakami M., Nakagawasai O., Fujii S. et al. Antinociceptive action of amlodipine blocking N-type Ca^{2+} channels at the primary afferent neurons in mice // *Eur.J.Pharmacol.* – 2001. – **419**. – P. 175–181.
37. Nelson M.T., Todorovic S.M. Is there a role for T-type calcium channels in peripheral and central pain sensitization? // *Mol.Neurobiol.* – 2006. – **34**. – P. 243–248.
38. Ogasawara M., Kurihara T., Hu Q. et al. Characterization of acute somatosensory pain transmission in P/Q-type $Ca(2+)$ channel mutant mice, leaner // *FEBS Lett.* – 2001. – **508**. – P. 181–186.
39. Pinchenko V.O., Kostyuk P.G., Kostyuk E.P. Influence of external pH on two types of low-voltage-activated calcium currents in primary sensory neurons of rats // *Biochim. and Biophys.Acta.* – 2005. – **1724**. – P. 1–7.
40. Radhakrishnan V., Tsoukatos J., Davis K.D. et al. A comparison of the burst activity of lateral thalamic neurons in chronic pain and non-pain patients // *Pain.* – 1999. – **80**. – P. 567–575.
41. Schroeder C.I., Doering C.J., Zamponi G.W., Lewis R.J. N-type calcium channel blockers: novel therapeutics for the treatment of pain // *Med.Chem.* – 2006. – **2**. – P. 535–543.
42. Scroggs R.S., Fox A.P. Calcium current variation between acutely isolated adult rat dorsal root ganglion neurons of different size // *J.Physiol.* – 1992. – **445**. – P. 639–658.
43. Sheldon C., Church J. Intracellular pH response to anoxia in acutely dissociated adult rat hippocampal CA1 neurons // *J.Neurophysiol.* – 2002. – **87**. – P. 2209–2224.
44. Shuba Y.M., Hesslinger B., Trautwein W. et al. Whole-cell calcium current in guinea-pig ventricular myocytes dialysed with guanine nucleotides // *J.Physiol.* – 1990. – **424**. – P. 205–228.
45. Smith M.R., Nelson A.B., Du L.S. Regulation of firing response gain by calcium-dependent mechanisms in vestibular nucleus neurons // *J.Neurophysiol.* – 2002. – **87**. – P. 2031–2042.
46. Takei T., Saegusa H., Zong S. et al. Increased sensitivity to halothane but decreased sensitivity to propofol

- in mice lacking the N-type Ca^{2+} channel // *Neurosci. Lett.* – 2003. – **350**. – P. 41–45.
47. Talavera K., Janssens A., Klugbauer N. et al. Extracellular Ca^{2+} modulates the effects of protons on gating and conduction properties of the T-type Ca^{2+} channel $\alpha 1\text{G}$ ($\text{CaV}3.1$) // *J.Gen.Physiol.* – 2003. – **121**. – P. 511–528.
 48. Talavera K., Janssens A., Klugbauer N. et al. Pore structure influences gating properties of the T-type Ca^{2+} channel $\alpha 1\text{G}$ // *J.Gen.Physiol.* – 2003. – **121**. – P. 529–540.
 49. Talley E.M., Cribbs L.L., Lee J.H. et al. Differential distribution of three members of a gene family encoding low voltage-activated (T-type) calcium channels // *J.Neurosci.* – 1999. – **19**. – P. 1895–1911.
 50. Todorovic S.M., Meyenburg A., Jevtovic-Todorovic V. Mechanical and thermal antinociception in rats following systemic administration of mibefradil, a T-type calcium channel blocker // *Brain Res.* – 2002. – **951**. – P. 336–340.
 51. Urban M.O., Ren K., Sablad M. et al. Medullary N-type and P/Q-type calcium channels contribute to neuropathy-induced allodynia // *Neuroreport.* – 2005. – **16**. – P. 563–566.
 52. Warre R., Randall A. Modulation of the deactivation kinetics of a recombinant rat T-type Ca^{2+} channel by prior inactivation // *Neurosci.Lett.* – 2000. – **293**. – P. 216–220.
 53. Wen X.J., Li Z.J., Chen Z.X. et al. Intrathecal administration of Cav3.2 and Cav3.3 antisense oligonucleotide reverses tactile allodynia and thermal hyperalgesia in rats following chronic compression of dorsal root of ganglion // *Acta Pharmacol.Sin.* – 2006. – **27**. – P. 1547–1552.
 54. Werz M.A., Elmslie K.S., Jones S.W. Phosphorylation enhances inactivation of N-type calcium channel current in bullfrog sympathetic neurons // *Pflug. Arch.* – 1993. – **424**. – P. 538–545.
 55. Wood J.N., Abrahamsen B., Baker M.D. et al. Ion channel activities implicated in pathological pain // *Novartis.Found.Symp.* – 2004. – **261**. – P. 32–40.
 56. Wu Z.Z., Chen S.R., Pan H.L. Signaling mechanisms of down-regulation of voltage-activated Ca^{2+} channels by transient receptor potential vanilloid type 1 stimulation with olvanil in primary sensory neurons // *Neuroscience.* – 2006. – **141**. – P. 407–419.
 57. Xiang Z., Bergold P.J. Synaptic depression and neuronal loss in transiently acidic hippocampal slice cultures // *Brain Res.* – 2000. – **881**. – P. 77–87.
 58. Xiao H.S., Huang Q.H., Zhang F.X. et al. Identification of gene expression profile of dorsal root ganglion in the rat peripheral axotomy model of neuropathic pain // *Proc.Nat.Acad.Sci.USA.* – 2002. – **99**. – P. 8360–8365.
 59. Yakel J.L. Inactivation of the Ba^{2+} current in dissociated Helix neurons: voltage dependence and the role of phosphorylation // *Pflug. Arch.* – 1992. – **420**. – P. 470–478.
 60. Yamamoto T., Niwa S., Ohno S. et al. Structure-activity relationship study of 1,4-dihydropyridine derivatives blocking N-type calcium channels // *Bioorg. Med.Chem.Lett.* – 2006. – **16**. – P. 798–802.

Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
e-mail: pkostyuk@biph.kiev.ua

Матеріал надійшов до
редакції 07.09.2007