

І.С. Магура, О.В. Долга, Н.О. Богданова

Інтегративна функція нервових клітин: роль калієвих каналів

Академик Ф.Н. Серков достойно продолжает научное направление своего выдающегося учителя академика Д.С. Воронцова – одного из основателей современной молекулярной физиологии нервной системы. Научная деятельность Ф.Н. Серкова в настоящее время направлена на изучение интегративной деятельности головного мозга. Важнейшим шагом в этой области изучения мозга является познание сложных механизмов интегрирования сигналов в нейронах. В значительной мере эти процессы связаны с функционированием различных типов ионных каналов. Особо важная роль принадлежит калиевым каналам. Характерная для каждого типа нейронов комбинация этих каналов обеспечивает широкий спектр проявлений возбудимости, что позволяет каждому нейрону в данное время специфически отвечать на входящие сигналы. Свойства многих разновидностей калиевых каналов могут модулироваться путем действия вторичных посредников, активированных нейромедиаторами и другими стимулами. Калиевые каналы представляют собой наиболее распространенные мишени для действия ряда сигнальных систем.

ВСТУП

Академік П.М. Серков – учень і послідовник видатного вченого й експериментатора академіка Д.С. Воронцова. Без перебільшення можна стверджувати, що експериментальні дослідження Д.С. Воронцова та його наукові концепції певною мірою сприяли становленню сучасної молекулярної нейрофізіології. Він був одним з перших дослідників механізмів електричної збудливості і дії на неї певних наркотичних речовин і алкалоїдів. Ці фармакологічні праці можна вважати підґрунтям для створення молекулярної фармакології. Твердження Д.С. Воронцова у п'ятидесятих роках минулого століття відносно особливостей сигнальної функції плазматичної мембрани повністю підтвердилися тільки в наш час.

Протягом своєї наукової діяльності П.М. Серков гідно продовжує науковий напрямок свого славетного вчителя. Його

наукова діяльність спрямована в основному на вивчення інтегративної діяльності головного мозку [2, 3]. П.М. Серков уперше здійснив внутрішньоклітинні відведення електричних потенціалів від нейронів різних рівнів слухової системи і вивчав синаптичні процеси, що відбуваються в цих нейронах. Результати досліджень були узагальнені в монографії «Физиология высших отделов слуховой системы». Ці унікальні дослідження були використані для розробки і впровадження у медичну практику нових методів і засобів діагностики та реабілітації слухової системи. За проведену роботу П.М. Серкову і співавторам у 1977 р. було присуджено Державну премію України в галузі науки і техніки. П.М. Серков розробив концептуальні уявлення відносно механізмів регуляції проведення аферентних імпульсів через таламус у кору головного мозку, що було відображено в монографії «Нейрофизиология таламуса» (у співавторстві з В.Н.Казаковим). Ця робота у

© І.С. Магура, О.В. Долга, Н.О. Богданова

1982 р. була відмічена премією ім. О.О. Богомольця АН України.

Елементарні події інтегративної діяльності мозку забезпечуються нервовими клітинами. Метою нашого огляду є висвітлення ролі надродини калієвих каналів у інтегральній функції нервових клітин.

Механізми електричної активності збудливих клітин і калієві канали. Згідно з сучасною оцінкою у головному мозку людини знаходиться близько 10^{11} нейронів і 10^{14} – 10^{15} синапсів. У мозку ідентифіковано майже 1000 різновидів нейронів. Вивчення молекулярних механізмів нейрональної активності – найперспективніший напрямок сучасної молекулярної нейрофізіології. Інтегративна активність нейронів значною мірою пов'язана з механізмами їхньої електричної збудливості, що зумовлена різними типами потенціалкерованих натрієвих, калієвих і кальцієвих каналів. Електрофізіологічні та молекулярно-біологічні дослідження останніх років сприяли ідентифікації великої кількості типів каналів.

Особливим розмаїттям і поліфункціональністю відрізняються калієві канали [17, 19, 23–25]. Це стосується їх специфічності за структурою, функцією та ворітним механізмам. Вони утворюють найбільш різноманітну надродину іонних каналів. Протягом останніх 10 років було клоновано багато різновидів калієвих каналів, досягнуто значного прогресу у вивченні їх біохімічних і біофізичних характеристик [6, 21].

Калієві канали виявлені практично у всіх типах клітин досліджуваних організмів; вони залучені до реалізації багатьох фізіологічних функцій і патофізіологічних процесів та ідентифіковані у всіх органах і тканинах, зокрема: у серці, гладеньких м'язах, мозку, підшлунковій залозі, нирках, легенях. Калієві канали відіграють ключову роль у широкому колі клітинних процесів, включаючи збудливість, секрецію, іонний транспорт і осмотичну регуляцію. Різноманітність електричної активності клітин

різних типів може бути певною мірою спричинено вибірковою експресією комбінацій калієвих каналів з різними властивостями [1, 8–10, 12–14].

Калієві канали достатньо диференційно експресуються в клітинах різних типів [21, 27, 32]. Калієві канали у даній тканині практично завжди гетерогенні [1]. Така гетерогенність, у всякому разі частково, зумовлена різноманітністю генів, що кодують субодиниці різних калієвих каналів. Розподілення цих каналів у плазматичній мембрані клітин не носить випадкового характеру. Як правило, такі канали утворюють кластери у певних регіонах клітини. Часто характерною особливістю є колокалізація кальцієвих каналів і кальційактивованих калієвих каналів у пресинаптичних терміналах синаптичних сполучень нервових клітин. Це забезпечує обмеження інтервалу часу, протягом якого кальцієві канали перебувають в активному стані, і відіграє важливу роль у механізмах секреції нейромедіаторів.

Збудливі клітини мають багато динамічно регульованих каналів. Їх різноманітність і пластичність дають змогу найбільш ефективно використовувати подібні канали для потреб клітини. Вибіркова експресія комбінацій калієвих каналів, що мають різні властивості, значною мірою визначає характер електричної активності клітин різних типів. Звичайно, передусім, необхідно згадати, що калієві канали відіграють важливу роль у створенні потенціалу спокою та регуляції тривалості потенціалу дії (ініціюючи реполяризацію та забезпечуючи закінчення процесу збудження), а також у модуляції вивільнення нейромедіаторів. Функціонування калієвих каналів певною мірою визначає специфіку відповіді нейрона на входні сигнали [1, 21, 31].

Динамічна регуляція властивостей калієвих каналів важлива для контролю різних проявів пре- і постсинаптичної електричної активності. Наприклад, різноманітність потенціалкерованих калієвих

каналів та неоднорідність їх розподілення в дендритах нейронів гіпокампа дають можливість контролювати часові характеристики й амплітуду розповсюджуваних потенціалів дії, амплітуду збудливих постсинаптичних потенціалів та збудливість дендритів [16, 30].

В організмі ссавців присутні централізовані хеморецептивні структури, в тому числі чутливі до кисню клітини, що швидко реагують на його нестачу. Ці клітини знаходяться в каротидних тільцях, судинах легень і легневих нейроепітеліальних тільцях. В більшості клітин, чутливих до парціального тиску кисню, знаходяться чутливі до кисню потенціалкеровані калієві канали. Пригнічення їх активності є важливим початковим етапом у сприйнятті зниження парціального тиску кисню [7, 26, 28].

Молекулярний аналіз процесів, пов'язаних з розвитком різних неврологічних захворювань, зокрема хвороби Альцгеймера, показав, що в цих випадках відбуваються істотні зміни в регуляції та функціонуванні калієвих каналів [4]. Деякі генетично детерміновані захворювання людини, зокрема певні різновиди серцевої аритмії, глухота, епілепсія, діабет, розлади регуляції кров'яного тиску, можуть бути результатом генних модифікацій, що призводять до аномального функціонування калієвих каналів. Експресія калієвих каналів модулює проліферацію деяких пухлинних клітин [22]. З варіаціями позаклітинної концентрації іонів калію в нервовій або м'язовій тканині пов'язують патогенез епілепсії й електричну нестабільність серця після гострої ішемії.

Калієві канали є мішенями для різних терапевтичних впливів. Фармакологічні препарати, що діють на калієві канали, широко використовуються при лікуванні різних захворювань, включаючи цукровий діабет 2-го типу, гіпертонію та серцеву аритмію. Деякі із цих препаратів, здійснюючи безпосередній вплив на калієві канали,

можуть одночасно впливати на метаболізм ліпідів [29].

За принципами контролю ворітних механізмів розрізняють потенціалкеровані та лігандкеровані калієві канали. Активація лігандкерованих каналів відбувається в результаті зв'язування іонів, невеликих органічних молекул, а іноді і протеїнів, із цитоплазматичними або з екстрацелюлярними доменами каналів.

Потенціалкеровані калієві канали. Потенціалкеровані калієві канали – це складні гомо- або гетероолігомерні білки, що складаються із формуючих основну частину каналу чотирьох α -субодиниць, що складаються з 6 доменів. Між 5 і 6 доменом кожної α -субодиниці знаходиться петля P, яка бере участь у формуванні зовнішнього входу у канал. Четвертий домен α -субодиниці несе електричні заряди і є чутливим до зміни напруженості електричного поля мембрани, йому притаманна функція сенсора напруги. Загально визнано, що потенціалкеровані калієві канали не існують як незалежні структури, які відповідають на зміну мембранного потенціалу. Це макромолекулярні комплекси, котрі здатні інтегрувати низку клітинних сигналів, що впливають на їх активність. Протеїни, що асоційовані з калієвими каналами, динамічно регулюють кінетику функціонування каналів, а також можуть впливати на тривалість їх життя. Асоційовані з каналом протеїни здійснюють адаптацію активності калієвого каналу до існуючих потреб [15, 18, 21].

Молекулярно-біологічні дослідження потенціалкерованих калієвих каналів дали підставу для ідентифікації 12 родин. Ідентифіковано багато генів α -субодиниць цих каналів. Проте кількість різновидів фенотипів калієвої провідності значно перевищує кількість генів. Такі процеси, як альтернативний сплайсинг, посттрансляційна модифікація, гетерологічне з'єднання субодиниць каналу, що формують тетра-

метр, зумовлюють певні особливості функціонування каналів. Воно може бути ще більшим, якщо враховувати взаємодію з супутніми протеїнами. Різноманітність електричної активності нервових клітин різних типів може бути певною мірою зумовлене вибірковою експресією комбінацій калієвих каналів з різними властивостями [18].

Потенціалкеровані калієві канали – важливий детермінант клітинного збудження і ключовий компонент багатьох шляхів перетворення різних сигналів. Існують докази, що потенціалкеровані калієві канали (як і інші типи каналів) локалізовані в певних ліпідних мікродоменах мембрани (рафтах). З такою їх локалізацією пов'язують і взаємодію каналних білків з певними різновидами мембранних ліпідів [20].

Кальційактивовані калієві канали. У багатьох типах клітин збільшення концентрації іонізованого кальцію в примембранному просторі цитоплазми призводить до активації калієвої провідності плазматичної мембрани. Цей феномен, уперше виявлений Дж. Гардосом (1958) на еритроцитах, зумовлений кальційактивованими калієвими каналами (K_{Ca} -канали). Такі канали поширені в різних клітинах. Вони відіграють важливу роль у механізмах секреції, ритмічної активності нервових клітин, у процесі реполяризації після виникнення потенціалу дії. Використання фіксування потенціалу на обмеженій ділянці мембрани (patch-clamp) і методик вбудовування іонних каналів у плоскі ліпідні мембрани дало змогу виявити кілька класів K_{Ca} -каналів. Різні типи цих каналів відрізняються один від одного провідністю поодиноких каналів, іонною вибірковістю. Вони можуть бути потенціалзалежними (тобто їхні ворітні механізми реагують на зміну напруженості електричного поля в мембрані) і потенціалнезалежними.

Провідність поодиноких K_{Ca} -каналів у багатьох клітинах досить висока та коре-

лює з високою іонною вибірковістю. Такі канали названо великими K_{Ca} -каналами. Їх виявлено у клітинах багатьох тканин, і вони активуються деполяризацією. Їхня активність підсилюється з підвищенням концентрації Ca^{2+} у цитозолі. Великі K_{Ca} -канали поширені в гладеньких м'язах, в яких вони відіграють значну роль у регуляції тонусу, а також у нервових клітинах. Крім того, вони значно впливають на регуляцію амплітуди та тривалість потенціалів дії у пресинаптичних терміналях, регулюючи тим самим вхід Ca^{+} та секрецію нейромедіатора. За умов симетрії, коли концентрація іонів калію з обох поверхонь мембрани становить 160 ммоль/л, провідність поодиноких великих K_{Ca} -каналів плазматичної мембрани хромафінних клітин щура сягає 265 пСм. Близькі значення провідності за таких самих умов характерні для великих K_{Ca} -каналів інших клітин. Великі K_{Ca} -канали ефективно блокуються токсинами, що містяться в отруті скорпіонів *Vuthus tamulus* і *Leiurus quinquestriatus* відповідно іберіотоксином і харибдотоксином, а також тетраетиламоній. За молекулярною структурою великі K_{Ca} -канали належать до надродини потенціалкерованих калієвих каналів. Їхня α -субодинація на відміну від інших членів цієї надродини має сьомий трансмембранний сегмент S0, з яким зв'язана NH_2 -екзоплазматична терміналь, яка забезпечує модульовальну дію β -субодинації [30, 31].

Малі K_{Ca} -канали виявлено в мембрані еритроцитів, в ацинарних клітинах підшлункової залози щура, у соматичній мембрані нейронів молюсків й інших клітинах. Провідність поодиноких малих K_{Ca} -каналів не перевищує 50 пСм. Ці канали можуть бути як потенціалзалежними, так і потенціалнезалежними. Апамін (токсин отрути бджоли) специфічно пригнічує малі K_{Ca} -канали [1].

Менш поширеними та вивченими є проміжні K_{Ca} -канали. Їх було ідентифіковано,

зокрема, у клітинах слинних залоз і гладеньких м'язів судин .

Калієві канали витоку (KCNK-канали). На відміну від потенціалкерованих калієвих каналів, в яких субодиниця складається з одного Р-домену й шістьох трансмембранних доменів, субодиниця KCNK-каналів має два Р-домени та чотири трансмембранні домени. Їх позначають як K_{2P} -канали. (Існують також KCNK-канали, в яких два Р-домени припадають на вісім трансмембранних). Пору каналів витоку формується двома мономерами.

Ідентифіковано понад 50 KCNK генів. Активність каналів витоку регулює нормальне функціонування центральних нейронів, гангліїв вісцеральної нервової системи, міокардіоцитів. До KCNK-родини належать TREK-канали, які експресуються у ЦНС людини. Вони активуються змінами температури, деформацією мембрани і внутрішньоклітинним ацидозом. TREK-канали активуються деякими поліненасиченими жирними кислотами, що зумовлює їхню нейропротекторну активність. Вони відіграють певну роль у механізмах дії речовин, що використовують для інгаляційного наркозу [11].

Калієві канали вхідного випрямлення (K_{ir} -надродина). Згідно з трансмембранною топологією, калієві канали поділяються на два великих класи: потенціалкеровані калієві канали, що складаються з α -субодиниць з шістьма трансмембранними доменами, і калієві канали вхідного випрямлення з двома трансмембранними доменами [21].

K_{ir} -канали відіграють роль регулятора мембранного потенціалу та клітинної збудливості. Вони є вибірково проникними для K^+ , їхня провідність чітко залежить від K^+ -електрохімічного градієнта K_{ir} -канали не мають подібного до S4 сенсора напруги й структури, яка забезпечує інактивацію. Уявні ворітні механізми, які зумовлюють вхідне випрямлення, опосередковані не

структурою каналу, а внутрішньоклітинними іонами Mg^{2+} і позитивно зарядженими поліамінами. Вони потенціалзалежно зв'язуються з відповідними структурами каналу та блокують його провідність.

Ідентифіковано сім підродин K_{ir} -каналів. Такі біофізичні властивості цих каналів, як випрямлення, провідність, чутливість до таких факторів, як концентрація протонів, G-білків, нуклеотидів, вторинних посередників залежать від їхньої субодиничної будови. Для молекулярної будови K_{ir} -каналів характерним є те, що пору каналу сформовано чотирма субодиницями. Кожна з них складається з двох трансмембранних α -спіралей. Між ними розташована Р-петля, яка формує вхід у пору.

Чутливі до АТФ калієві канали (K_{ATP}) належать до K_{ir} -родини. Вони пов'язують метаболізм клітини з її збудливістю. K_{ATP} -канали гетеромультимери з двох радикально різноманітних частин. Частина, що формує пору і має будову, яка властива всій K_{ir} -надродині. Інша частина K_{ATP} -каналів являє собою рецептор сульфонілсечовини (SUR), який відноситься до надродини ABC-транспортерів (АТФ-зв'язувальні касетні протеїни). Функціонуючий K_{ATP} -канал є октамером, що складається з чотирьох K_{ir} -6.х-субодиниць і чотирьох SUR-субодиниць. Різні типи K_{ATP} -каналів відрізняються не тільки за розтошуванням у визначених тканинах, але і за фармакологією та чутливістю до АТФ.

Таким чином, калієві канали існують як макромолекулярні комплекси, які здатні інтегрувати низку клітинних сигналів, що регулюють їхню активність. Їхня фармакологічна модуляція може бути перспективною для лікування певних неврологічних захворювань, зокрема епілепсії та хвороби Альцгеймера. Калієві канали значною мірою визначають відповідь нейрона на вхідні стимули. Ворітні процеси калієвих каналів варіабельні у своїх властивостях і механізмах. Варіабельність ворітних

механізмів, що зумовлюють інактивацию, визначають феномен акомодации під час ритмічної генерації потенціалів дії в сомі нервової клітини, що може бути пов'язаним з оптимізацією сигнальної функції ритмічного розряду. Накопичення іонів калію у навколомембранному просторі нейрона відіграє важливу сигнальну роль. Воно зумовлює алостеричний ефект, що модулює потенціалзалежні властивості ворітних механізмів калієвих каналів.

I.S. Magura, E.V. Dolgaya, N.A. Bogdanova

INTEGRATIVE FUNCTION OF NERVOUS CELLS: ROLE OF POTASSIUM CHANNELS

Complex processing and integration of the signals observed in neurons are facilitated by a diverse range of the gating properties of the ion channels in this cell type, particularly of the voltage-gated potassium channels. A distinctive combination of potassium channels endows neurons with a broad repertoire of the excitable properties and allows each neuron to respond in a specific manner to a given input at a given time. The properties of many potassium channels can be modulated by second messenger pathways activated by neurotransmitters and other stimuli. Potassium channels are among the most frequent targets of the actions of several signaling systems.

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Магура И.С. Молекулярные механизмы модуляции интегративной функции нервных клеток: роль калиевых каналов // *Арх. клинич. и эксперим. медицины* – 2002. – **11**, № 1. – С.7–9.
2. Серков Ф.Н. Электрофизиология высших отделов слуховой системы. – К.: Наук. думка, 1977. – 216 с.
3. Серков Ф.Н., Казаков В.Н. Нейрофизиология таламуса. – К.: Наук. думка, 1980–260 с.
4. Breitwieser G. E. Mechanisms of K⁺ channel regulation // *Membrane Biol.* – 1996. – **152**. – P.1–11.
5. Butler A., Wei A.G., Baker K., Salkoff L. A family of putative potassium channel genes in *Drosophila* // *Science*. – 1989. – **243**. – P.943–947.
6. Choe S. Potassium channel structures // *Nature Rev.* – 2002. – **3**. – P.118–121.
7. Conforti L., Millhorn D. E. Selective inhibition of a slow-inactivating voltage-dependent K⁺ channel in rat PC12 cells by hypoxia // *J. Physiol.* – 1997. – **502**. – P.293–305.
8. Connor J.A., Stevens C.F. Inward and delayed outward membrane currents in isolated neural somata under voltage clamp // *Ibid.* – 1971 – **213**. – P.1–19.
9. Connor J.A., Stevens C.F. Voltage clamp studies of a transient outward membrane current in gastropod neural somata // *Ibid.* – 1971 – **213**. – P.21–30.
10. Connor J.A., Stevens C.F. Prediction of repetitive firing behavior from voltage clamp data on an isolated neurone soma // *Ibid.* – 1971 – **213**. – P.31–53.
11. Franks N.P., Honore E. The TREK K⁺ channels and their role in general anaesthesia and neuroprotection // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2004. – **25**. – P.601–608.
12. Gan L., Hahn S.J., Kaczmarek L.K. Cell type-specific expression of the Kv3.1 gene is mediated by a negative element in the 5' untranslated region of the Kv3.1 promoter // *J. Neurochem.* – 1999. – **73**. – P.1350–1362.
13. Hille B. *Ionic Channels of Excitable Membrane* // Sinauer Assoc, Sunderland, Massachusetts. – 1992.
14. Hwang P.G., Glatt C.E., Brecht D.S. et al. A novel K⁺ channel with unique localizations in mammalian brain: molecular cloning and characterization // *Neuron*. – 1992. – **8**. – P.473–481.
15. Isom L.L., DeJongh K.S., Catterall W.A. Auxiliary subunits of voltage-gated ion channels // *Ibid.* – 1994. – **12**. – P.1183–1194.
16. Johnston D., Hoffman D.A., Magee J.C. et al. Dendritic potassium channels in hippocampal pyramidal neurons // *J. Physiol.* – 2000. – **525**. – P.75–81.
17. Kiss L., LoTurco J., Korn S.J. Contribution of the selectivity filter to inactivation in potassium channels // *Biophys.* – 1999. – **16**. – P.253–263.
18. Li Y., Um S.Y., McDonald T.V. Voltage-gated potassium channels: regulation by accessory subunits // *Neuroscientist*. – 2006. – **12**. – P.199–210.
19. MacKinnon R. Potassium channels // *FEBS Lett.* – 2003. – **555**. – P.62–65.
20. Martens J.R., O'Connell K., Tamkun M. Targeting of ion channels to membrane microdomains: localization of Kv channels to lipid rafts // *Trends Pharmacol. Sci.* – 2004. – **25**. – P.16–21.
21. Miller C. An overview of the Potassium channel family // *Genome Biol.* – 2000. – **1**. – P.0004.1–0004.5.
22. Nilius B., Droogmans G. A role for K⁺ channels in cell proliferation // *NIPS*. – 1994. – **9**. – P.105–110.
23. Pak M.D., Baker K., Covarrubias M. et al. mShal, a subfamily of A-type K⁺ channel cloned from mammalian brain // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1991 – **88**. – P.4386–4390.
24. Pak M.D., Covarrubias M., Ratcliffe A., Salkoff L. A mouse brain homolog of the *Drosophila* Shab K⁺ channel with conserved delayed-rectifier properties // *J. Neurosci.* – 1991. – **11**. – P.869–880.
25. Papazian D.M., Tempel B.L., Schwarz T.L. et al. Cloning of genomic and complementary DNA from Shaker, a putative potassium channel gene from *Drosophila* // *Science*. – 1987. – **237**. – P.749–753.
26. Perez-Garcia M.T., Lopez-Lopez J.R. Are Kv channels the essence of O₂ sensing // *Circulat. Res.* – 2000. – **86**. – P.490–491.

27. Salkoff L., Baker K., Butler A. et al. An essential «set» of K^+ channels conserved in flies, mice and humans // Trends Neurosci. – 1995. – **18**. – P.161–166.
28. Semenza G.L. Perspectives on oxygen sensing // Cell. – 1999. – **98**. – P.281–284.
29. Szewczyk A., Pikula S. Lipid metabolism as a target for potassium channel effectors // Biochem. Pharmacol. – **60**. – P.607–614.
30. Tan Y.P., Llano I. Modulation by K^+ channels of action potential-evoked intracellular Ca^{2+} concentration rises in rat cerebellar basket cell axons // J. Physiol. – 1999. – **520**. – P.65–78.
31. Toro L., Wallner M., Meera P., Tanaka Y. Maxi- K_{Ca} , a unique member of the voltage – gated K channel superfamily // News Physiol. Sci. – 1998. – **13**. – P.112–117.
32. Trimmer J.S. Expression of Kv2.1 delayed rectifier K^+ channel isoforms in the developing rat brain // FEBS Lett. – 1993. – **324**. – P.205–210.
33. Yellen G. The moving parts of voltage-gated ion channels // Quart. Rev. Biophys. – 1998. – **31**. – P.239–295.

Ін-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, Київ
magura@biph.kiev.ua

*Матеріал надійшов до
редакції 24.06.2008*