

Ионные каналы представляют собой трансмембранные белковые комплексы, предназначенные для переноса ионов с одной стороны мембраны на другую. Этот перенос носит пассивный характер и осуществляется по градиенту концентрации соответствующего иона. Ионные каналы экспрессируются во всех без исключения клетках организма (как электровозбудимых, так и электроневозбудимых тканей) и являются важными компонентами клеточных сигнальных систем, активируемых при действии гуморальных регуляторов, межклеточном контакте, взаимодействии с внеклеточным матриксом, а также при действии внешних факторов биологической, химической и физической природы. Ионные каналы располагаются не только на плазматической мембране клеток, но экспрессируются на всех остальных внутриклеточных мембранах (митохондрий, лизосом, ядра, эндоплазматического ретикулума). Часть каналов в мембранах клеток расположена не равномерно, а сконцентрирована в кластерах.

Данные о **молекулярной структуре ионных каналов** свидетельствуют о том, что они, как правило, представляют собой заполненную водой пору, выстланную изнутри полярными группами аминокислот, сама пора образована либо α -спиральными, либо (3-структурными элементами). Поток ионов по ионным каналам формирует электрический ток (10^{-10} - 10^{-12} А/канал). Когда канал открыт, через липидный бислой может проходить до 10^6 - 10^8 ионов в секунду, то есть открытие относительно малого числа каналов приводит к значительным и быстрым изменениям электрических свойств мембран (Р. Геннис, 1997). Открытие натриевых и кальциевых каналов плазматической мембраны приводит к поступлению этих ионов в клетку и деполяризации мембраны, в то время как открытие калиевых и хлорных каналов - к гиперполяризации мембраны (суммарный заряд цитоплазмы становится более отрицательным).

Каналы, открывающиеся при изменении потенциала мембраны, относятся к группе **потенциал-зависимых ионных каналов**; каналы, чье пропускание регулируется за счет связывания внутри- и внеклеточных лигандов, называются **лиганд-управляемыми ионными каналами**. Кроме того, есть каналы, регулируемые физическими стимулами (повышением температуры, растяжением и т.д.) (R. Felix, 2000).

Регулируемые ионные каналы, участвующие в передаче сигнала, в ответ на определенный внешний стимул быстро изменяют мембранную проницаемость для определенного иона, при этом происходит изменение трансмембранного потенциала. Существует несколько требований к работе такого рода каналов: 1) внешний сигнал должен вызывать быстрое переключение между открытым и закрытым состояниями канала; 2) новое равновесие или стационарное значение мембранного потенциала должно устанавливаться быстро.

Ионные каналы могут находиться в открытом и закрытом состоянии, а процесс перехода из одного состояния в другое обозначается как пропускание (gating). Помимо этого, потенциал-зависимые каналы могут быть в инактивированном состоянии, что подразумевает их неспособность в данный момент времени отвечать на регуляторные сигналы (отсутствие проводимости на фоне стойкой деполяризации) (рис. 1).

Каналы обладают **ионной селективностью**, то есть они способны пропускать некоторые ионы намного лучше, чем другие. Селективность канала определяется особенностями строения его поровой части, размером переносимых ионов, расположением специфических аминокислотных остатков в нескольких ключевых местах внутренней поверхности канала, а также высотой энергетических барьеров, преодолеваемых ионом при прохождении через канал. Кроме того, во внутренней полости каналов существует самое узкое место, которое может выполнять роль фильтра, пропуская ионы соответствующего диаметра. Однако одно это не может объяснить высокую ионную селективность, например, калиевых каналов, которые не пропускают ионы натрия, несмотря на их значительно меньший размер по сравнению с ионами калия (R. Felix, 2000).

Белковая структура, формирующая собственно поровый комплекс, в потенциал-зависимых ионных каналах состоит из 2, 4 или 6 гидрофобных сегментов, встроенных в мембрану, один из этих сегментов имеет уникальную последовательность положительно заряженных остатков аминокислот (лизин, аргинин) и выполняет роль сенсора заряда (рис. 2). Изменение потенциала мембраны приводит к конформационной перестройке трансмембранных сегментов, в том числе сегмента, несущего сенсор заряда, результатом этого является активация (открытие) ионного канала.

С субъединицами, формирующими поровую часть потенциал-зависимых ионных каналов, могут взаимодействовать так называемые дополнительные (вспомогательные) молекулы, например, белки, ассоциированные с протеинкиназой А, белки с шаперонной активностью и др. Эти белковые молекулы играют особую роль в контроле инактивации, экспрессии и внутриклеточного транспорта ионных каналов, часто являются участками связывания эндогенных и экзогенных регуляторов.

Лиганд-управляемые ионные каналы (никотиновые ацетилхолиновые, серотониновые и другие) фактически представляют собой рецепторы, имеющие в своей структуре канал, которые открываются при взаимодействии рецептора с внеклеточным лигандом. Все лиганд-управляемые ионные каналы состоят из пяти субъединиц, окружающих поровую часть. Каждая субъединица, в свою очередь, состоит из большого внеклеточного домена и четырех трансмембранных доменов (рис. 3). Внеклеточные фрагменты комплекса участвуют в связывании лиганда,

тогда как трансмембранные сегменты претерпевают конформационные изменения при лиганд-рецепторном взаимодействии и обеспечивают проницаемость канала для иона.

Гомология аминокислотных последовательностей в субъединицах может достигать 70% в пределах одного пентамерного комплекса и 30-40% для разных каналов данного семейства. Все представители семейства лигандуправляемых ионных каналов имеют так называемую цистеиновую петлю во внеклеточном домене, которая, вероятно, принимает участие в активации канала (N.L. Absalom, 2004).

Регуляция экспрессии белков-компонентов ионных каналов чрезвычайно сложна, включает в себя механизмы, реализуемые в динамике развития клеток и ткани, при поддержании клеточного гомеостаза (в том числе при изменении функциональной активности ионного канала), а также эволюционные механизмы, результат действия которых очевиден при сравнении экспрессии ионных каналов у разных видов животных (B. Rosati, 2004).

Установление взаимосвязи между транскрипцией какого-либо гена, кодирующего белок ионного канала, и собственно белком, является весьма сложной задачей, коль скоро гиперэкспрессия клонированного гена в клетке, как правило, подразумевает присутствие эндогенных молекул ионного канала данного типа. Вместе с тем именно в этом направлении клеточной и молекулярной биологии достигнут значительный прогресс, что позволило установить следующие закономерности регуляции экспрессии ионных каналов в клетках (C. Hubner, 2002, B. Rosati, 2004):

1. Регуляция экспрессии осуществляется на всех уровнях цепочки «транскрипция гена - процессинг и трансляция мРНК - процессинг белка - формирование мультимерных комплексов - транспортировка комплексов к мембране - формирование канала в мембране». Кроме того, существенный вклад в изменение экспрессии может вносить регуляция на этапе реализации каналом его функции и в процессе деградации белка в клетке.

2. Функциональная активность ионного канала часто приводит к изменению транскрипционной активности в клетке (например, многие транскрипционные факторы имеют высокую чувствительность к внутриклеточной концентрации кальция), вследствие чего экспрессия данного или иного типа ионных каналов изменяется.

3. Естественными регуляторами экспрессии ионных каналов являются нейротрансмиттеры, гормоны, цитокины.

4. Клеточный «электрофизиологический фенотип» является отражением совокупной и динамически меняющейся экспрессии генов, кодирующих белки ионных каналов.

5. Мутации генов, кодирующие белки ионных каналов, могут вызывать как потерю, так и усиление функциональной активности соответствующего ионного канала.

6. С учетом того, что каждый белок ионного канала кодируется двумя аллелями гена, мутация в одной аллели, сопровождающаяся потерей функциональной активности синтезируемого белка, приводит к компенсаторному увеличению транскрипции альтернативной аллели, усилению процессов сборки мультимерных комплексов и торможению процесса деградации соответствующих ионных каналов в клетках. В результате этого с вдвое уменьшенного количества мРНК синтезируется практически нормальное количество белка, а фенотипически такая мутация не проявляется.

7. При нарушении транскрипционных или посттранскрипционных компенсаторных механизмов (что характерно для некоторых типов ионных каналов) электрофизиологический фенотип клетки меняется вследствие снижения количества и/или функциональной активности синтезируемых белков ионных каналов.

Мутация гена приводит к синтезу дефектного белка-компоненты ионного канала, что проявляется изменением кинетики и потенциал-зависимости инактивации, нарушением механизмов открытия и закрытия канала. Например, более позднее, но персистентное открытие натриевых потенциал-зависимых ионных каналов, характерное для функционирования дефектного белка, кодирующего субъединицу этого канала, приводит к так называемому резидуальному входу натрия и реиницирует циклы деполяризации мембраны (R. Felix, 2000). В силу мультимерности ионных каналов мутации, ассоциированные с изменением функциональной активности соответствующего белка, приводят к более выраженным последствиям для клетки, чем этого можно было бы ожидать, судя по степени выраженности генетического дефекта.

Потенциал-зависимые натриевые каналы участвуют в генерации потенциала действия в различных клетках, в том числе в клетках скелетной мускулатуры, за счет осуществляемого ими транспорта ионов натрия внутрь клетки по электрическому и концентрационному градиенту. Благодаря этому мембрана клетки деполяризуется (изменение потенциала мембраны от -85 мВ до +25 мВ). Следующая за этим быстрая инактивация натриевых каналов сопровождается повышением мембранной проницаемости для ионов калия, которые, поступая в цитоплазму, возвращают потенциал мембраны к исходному уровню.

Мутации генов, кодирующих натриевые каналы, могут приводить к увеличению функциональной активности этих каналов, что сопровождается: 1) неполной или нестабильной инактивацией канала; 2) повторными эпизодами открытия канала; 3) патологически усиленным натриевым током; 4) стойкой мембранной деполяризацией. Последняя вызывает вторичную потерю функциональной активности остальных натриевых каналов, экспрессируемых в данной клетке, даже при условии отсутствия дефектов белков этих каналов (F. Lehmann-Horn, 2003).

Потенциал-зависимые хлорные каналы участвуют в стабилизации мембранного потенциала. Это особенно очевидно в клетках скелетной мускулатуры, коль скоро, в отличие от клеток других тканей, потенциал покоя мембраны на 80% определяется ионами хлора, а не калия. Электрогенный захват клетками протонов водорода или ионов кальция может быстро приводить к дисбалансу зарядов в клетке, сопровождающемуся нарушением дальнейшего входа катионов. Следовательно, суммарный внутриклеточный положительный заряд должен быть частично нейтрализован для поддержания градиента кальция или протонов водорода. Это достижимо либо за счет импорта хлорид-ионов, либо за счет экспорта ионов калия. В скелетной мускулатуре первый вариант решения проблемы доминирует за счет того, что концентрация внеклеточного хлора в 20 раз выше, чем концентрация внеклеточного калия.

Мутации генов, кодирующих хлорные каналы, приводят к снижению их функциональной активности до 25% и менее от должного уровня. При этом практически все мутации генов, кодирующих хлорные каналы, выражаются в изменении потенциал-зависимости каналов при деполяризации. Это ассоциировано с развитием мембранной гипервозбудимости, нарушением сопряжения возбуждения и сокращения (Т.Ж. Jentsch, 2002).

К наследственным каналопатиям относятся следующие виды патологии:

Заболевания почек

Синдром Барттера - нарушение трансэпителиального транспорта в почках (наследственная тубулопатия, гипокалиемический алкалоз, гиперренинемический гиперальдо-стеронизм) - мутации K^+ канала (KCNJ1), Cl^- канала (CLCNKB).

Болезнь Дента - нарушение канальцевого эндцитоза, приводящее к мочекаменной болезни (протеинурия, гиперкальциурия, гиперфосфатурия) - мутация Cl^- канала (CLCN5).

Эндокринные заболевания

Семейная персистирующая гиперинсулинемическая гипогликемия новорожденных - мутация АТФ-зависимого K^+ канала (KCNQ11) или ассоциированного с ним рецептора сульфанилмочевины (SUR1).

Заболевания костной ткани

Наследственные формы остеопетроза (остеокласты не способны к эффективной резорбции костной ткани) - мутации Cl^- канала (CLCN7).

Неврологические заболевания

Эпилепсия - мутации K^+ каналов (KCNQ2, KCNQ3), Na^+ каналов (SCN1A, SCN1B), СТ каналов, ассоциированных с ГАМК рецепторами.

Эпизодическая атаксия - мутации K^+ каналов (KCNA1).

Мигрень - мутации Ca_2^+ каналов (CACNA1A).

Ахроматопсия - мутации цГМФ-регулируемых катионных каналов.

Глухота - мутации K^+ каналов (KCNQ4), коннексинов (GJB2, GJB3).

Аритмии

LQT синдром (удлинение интервала QT) - мутации Na^+ канала (SCN5A), K^+ каналов (KCNQ1, KCNE1, KCNE2, HERG).

Катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия - мутации Ca_2^+ канала, участвующего в CICR (RyR2).

Аритмогенная правожелудочковая дисплазия II типа (наследственная кардиомиопатия) - мутации RyR2.

Патология скелетной мускулатуры

Миастения - мутации никотинового ацетилхолинового рецептора (CHRNA1) и ассоциированных Na^+ каналов.

Злокачественная гипертермия - мутации Ca_2^+ каналов (RyR1).

Миотония - мутации СТ каналов (CLCN1).

К приобретенным каналопатиям относятся некоторые виды гипертрофии сердца и сердечной недостаточности - уменьшение активности и экспрессии (на 30%) K^+ KV4.3 каналов в кардиомиоцитах, что приводит к нарушению процесса реполяризации и пролонгирования потенциала действия, причем неравномерное в ткани сердца изменение экспрессии этих каналов является причиной развития гетерогенности электрических свойств миокарда и проявляется желудочковыми аритмиями; некоторые виды фибрилляции предсердий - снижение экспрессии L-типа Ca_2^+ ионных каналов L-типа, K^+ ионных каналов KV4.3, KV1.5; LQT синдром, индуцируемый НИ антагонистами, трициклическими антидепрессантами, некоторыми антибиотиками - результат прямого действия ксенобиотиков на некоторые калиевые каналы, экспрессируемые в кардиомиоцитах. Для болезни Альцгеймера характерно снижение экспрессии Ca_2^+ -активируемых K^+ каналов, ингибирование активности потенциал-зависимых K^+ каналов в гиппокампальных нейронах (похожие изменения идентифицируются в фибробластах и лимфоцитах).

Понимание механизмов регулирования активности и экспрессии ионных каналов в электровозбудимых и электронеозбудимых клетках раскрывает новые аспекты патогенеза большого круга патологических состояний, свя-

