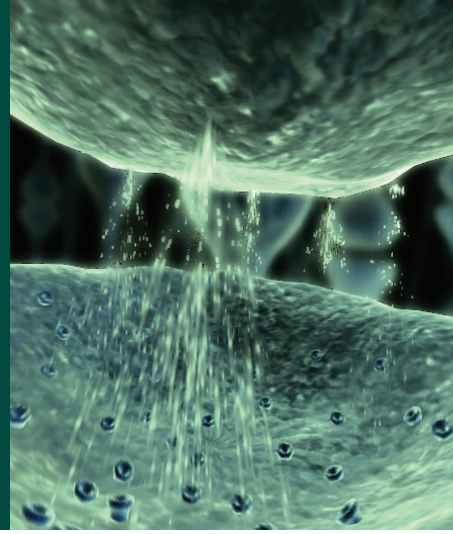


4

Κανάλια ιόντων και ο ρόλος τους στη μεταγωγή σήματος



1. Ο ρόλος του δυναμικού της μεμβράνης στη μεταγωγή σήματος

- 1.1 Το δυναμικό ηρεμίας της πλασματικής μεμβράνης των κυττάρων
- 1.2 Το δυναμικό δράσης των διεγερσιμων κυττάρων

2. Ταξινόμηση των καναλιών σύμφωνα με το είδος ιόντων, τον τρόπο ελέγχου της ροής και τη δομή

- 2.1 Η μεγαλύτερη οικογένεια καναλιών κατιόντων, η υπεροικογένεια S5-S6
- 2.2 Η οικογένεια των προσδετο-εξαρτώμενων από εξωκυτταρικό νευροδιαβιβαστή καναλιών ιόντων ή καναλιών υποδοχέων
- 2.3 Η υπεροικογένεια των καναλιών ανιόντων

3. Κανάλια κατιόντων της υπεροικογένειας S5-S6: Πρότυπες δομές και ο ρόλος τους στη σηματοδότηση

- 3.1 Τασο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ : υπεύθυνα για την ανοδική φάση του δυναμικού δράσης
- 3.2 Τασο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ : υπεύθυνα για την καθοδική φάση του δυναμικού δράσης
- 3.3 Τασο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , ευαίσθητα στα ιόντα Ca^{2+}
- 3.4 Τασο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+}
- 3.5 Κανάλια που ελέγχονται από κυκλικά νουκλεοτίδια

- 3.6 Κανάλια υποδοχείς τριφωσφορικής ινσιτόλης (InsP_3) και ρυανοδίνης στο ΕΔ/ΣΔ
- 3.7 Κανάλια TRP, παροδικού δυναμικού που ελέγχονται από υποδοχείς
- 3.8 Επιθηλιακά κανάλια Na^+ : ρύθμιση του ισοζυγίου ηλεκτρολυτών
- 3.9 Κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ : ρύθμιση του δυναμικού ηρεμίας
- 3.10 Κανάλια K^+ με 2-P-βρόχους: βαλβίδες μείωσης πίεσης, αισθητές θερμοκρασίας

4. Υποδοχείς προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια ιόντων

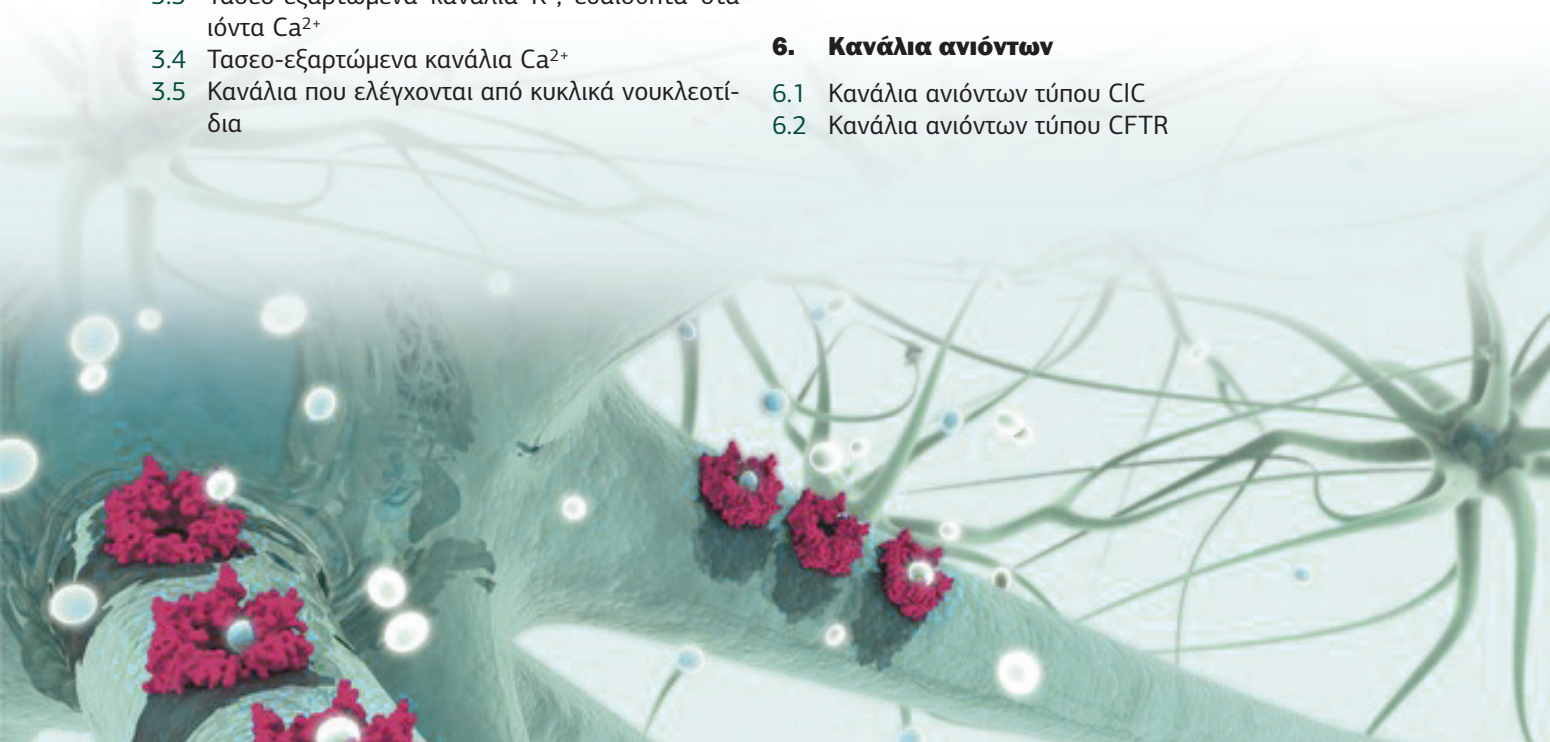
- 4.1 Οικογένεια των πουρινεργικών υποδοχέων του ATP (P2X)
- 4.2 Οικογένεια υποδοχέων καναλιών ιόντων της οικογένειας Cys-βρόχου
- 4.3 Οικογένεια ιοντοτροπικών υποδοχέων του γλουταμινικού οξέος

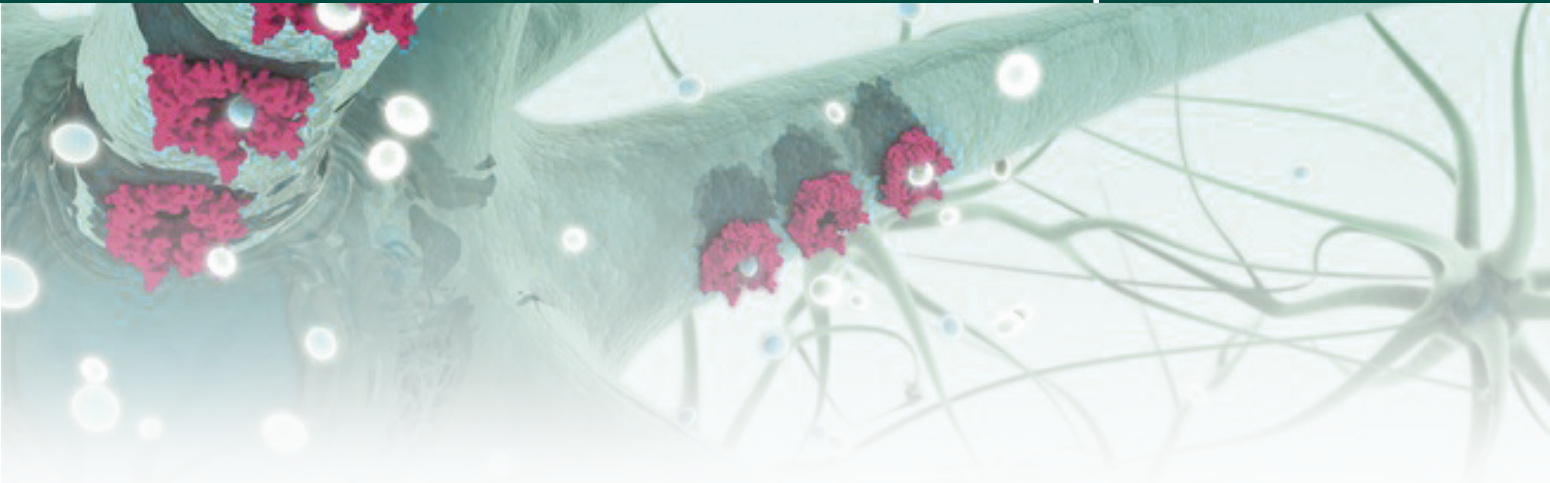
5. Κανάλια που ελέγχονται από αποθήκες ασβεστίου

- 5.1 Κανάλια CRAC
- 5.2 Κανάλια TRPC ως SOCCs

6. Κανάλια ανιόντων

- 6.1 Κανάλια ανιόντων τύπου ClC
- 6.2 Κανάλια ανιόντων τύπου CFTR





1. Ο ρόλος του δυναμικού της μεμβράνης στη μεταγωγή σήματος

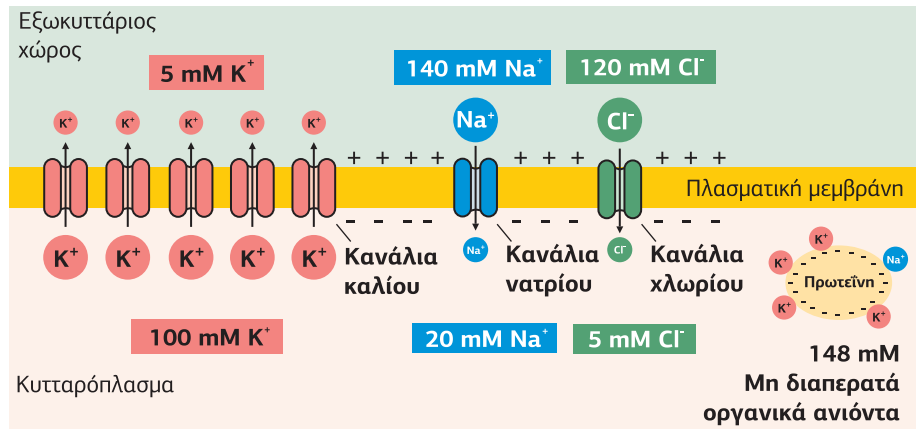
Οι μηχανισμοί μεταγωγής σήματος προσλαμβάνουν την ενέργεια που χρειάζονται από βιοχημικές αντιδράσεις, όπως η υδρόλυση δεσμών πλούσιων σε ενέργεια ή οξειδο-αναγωγικές αντιδράσεις. Παράλληλα όμως, όλοι οι κυτταρικοί τύποι χρησιμοποιούν ενέργεια αποθηκευμένη στο δυναμικό της μεμβράνης (όπως μια φορτισμένη μπαταρία) για την αποκωδικοποίηση και τη μεταφορά του εξωκυτταρικού σήματος. Το δυναμικό της μεμβράνης οφείλεται στην άνιση κατανομή ιόντων που δημιουργείται και διατηρείται από ΑΤΡάσες. Για να μεταβληθεί το δυναμικό, αρκεί η μετακίνηση μιας μικρής ποσότητας ιόντων διαμέσου της μεμβράνης. Τα περισσότερα σήματα που χρησιμοποιούν το δυναμικό της μεμβράνης στη μεταγωγή εμπλέκουν κανάλια ιόντων αντί για αντλίες. Τα κανάλια ελέγχονται από μια μεγάλη ποικιλία εξωκυτταρικών και ενδοκυτταρικών παραγόντων και είναι ικανά να ρυθμίσουν σχεδόν οποιαδήποτε κυτταρική λειτουργία, συμπεριλαμβανομένης και της έκφρασης των γονιδίων. Αυτό το πετυχαίνουν συνδέοντας την είσοδο/έξοδο ιόντων με βιοχημικά μεταγωγικά μονοπάτια.

1.1 Το δυναμικό πρεμίας της πλασματικής μεμβράνης των κυττάρων

Σχεδόν όλες οι μεμβράνες στα ζωικά, φυτικά και τα κύτταρα των μυκήτων διατηρούν μια σταθερή διαφορά δυναμικού ανάμεσα στο κυτταρόπλασμα και τον εξωκυτταρικό χώρο. Η διαφορά αυτή ονομάζεται **δυναμικό πρεμίας της μεμβρά-**

Εικόνα 4.1

Το αρνητικό δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης ενός κυττάρου (-50 έως -90 mV) οφείλεται στην άνιση κατανομή ιόντων Na⁺, K⁺, Cl⁻. Το κυτταρόπλασμα περιέχει μεγάλη συγκέντρωση K⁺ σε σχέση με τον εξωκυτταρικό χώρο και γι' αυτό το άνοιγμα καναλιών K⁺ οδηγεί στην έξοδο K⁺. Αντιθέτως, το κυτταρόπλασμα περιέχει μικρή συγκέντρωση Na⁺ και Cl⁻ σε σχέση με τον εξωκυτταρικό χώρο και γι' αυτό το άνοιγμα καναλιών Na⁺ ή Cl⁻ οδηγεί στην είσοδο Na⁺ και Cl⁻ στο κύτταρο. Επίσης, στο εσωτερικό των κυττάρων υπάρχει μεγάλη συγκέντρωση αρνητικά φορτισμένων πρωτεϊνών που συνεισφέρει σημαντικά στη δημιουργία του αρνητικού δυναμικού ηρεμίας.



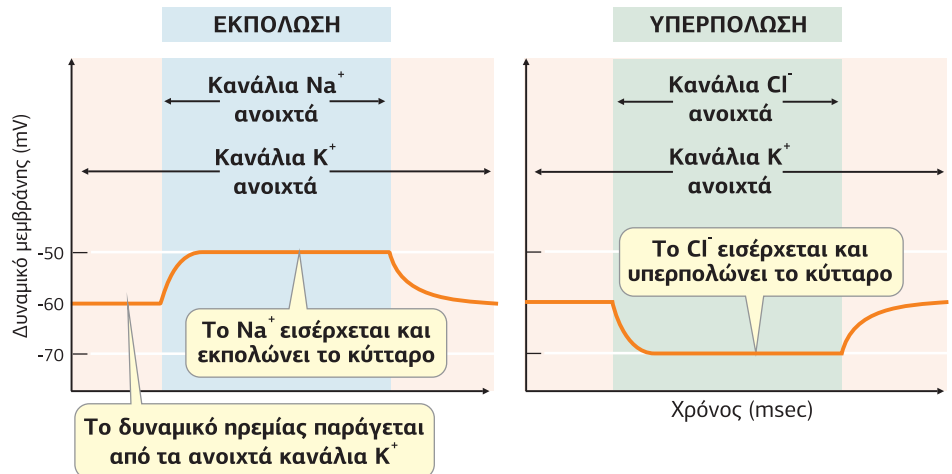
νης (resting potential) και δημιουργείται από την άνιση κατανομή ιόντων Na⁺, K⁺, Cl⁻ και οργανικών ανιόντων εκατέρωθεν της κυτταρικής μεμβράνης (Εικόνα 4.1). Η τιμή του δυναμικού ηρεμίας προκύπτει εάν από το ενδοκυτταρικό δυναμικό αφαιρέσουμε το εξωκυτταρικό. Κυμαίνεται από -50 έως -90 mV ανάλογα με το είδος του κυττάρου, το δε αρνητικό πρόσημο συμβολίζει ότι το κυτταρόπλασμα είναι αρνητικά φορτισμένο σε σχέση με τον εξωκυτταρικό χώρο. Στο εσωτερικό του κυττάρου η συγκέντρωση ιόντων Na⁺ είναι 10 φορές χαμηλότερη από αυτή στο εξωτερικό και η συγκέντρωση K⁺ 20 φορές υψηλότερη σε σχέση με τον εξωκυτταρικό χώρο. Η άνιση αυτή κατανομή Na⁺/K⁺ διατηρείται χάρη στην αντλία Na⁺/K⁺ ή Na⁺/K⁺-ATPάση, ένα πρωτεϊνικό σύμπλοκο το οποίο καταναλώνοντας ATP μεταφέρει Na⁺ έξω από το κύτταρο και K⁺ μέσα στο κύτταρο, με αναλογία 3 Na⁺ προς τα έξω για 2 K⁺ προς τα μέσα, γεγονός που δημιουργεί αρνητικό δυναμικό στο εσωτερικό του κυττάρου (βλ. Κεφάλαιο 1, σσ. 45-47).

Η επίδραση ενός ερεθίσματος δημιουργεί μέσω ενός μηχανισμού ξεχωριστού για κάθε τύπο κυττάρου, μια αλλαγή στο δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης. Όταν το ερέθισμα προκαλεί είσοδο θετικών ιόντων (Na⁺, Ca²⁺) στο κυτταρόπλασμα, το δυναμικό ηρεμίας αυξάνεται (π.χ. από -60 mV σε -50 mV) και το κύτταρο λέμε ότι **εκπολώνεται**. Όταν το ερέθισμα προκαλεί έξοδο θετικών ιόντων (K⁺) ή είσοδο αρνητικών ιόντων (Cl⁻) στο κύτταρο, το δυναμικό ηρεμίας παίρνει πιο αρνητικές τιμές (π.χ. από -60 mV σε -70 mV) και το κύτταρο λέμε ότι **υπερπολώνεται** (Εικόνα 4.2).

Η εκπόλωση ή η υπερπόλωση είναι το πρώτο βήμα για την αποκωδικοποίηση της πληροφορίας. Είναι ένα καθαρά τοπικό σήμα που δεν μπορεί να μεταφερθεί κατά μήκος της μεμβράνης του κυττάρου, γιατί μόλις μέσα σε 15 msec το κύτταρο αποκαθιστά το φυσιολογικό δυναμικό ηρεμίας, μέσω της εξόδου ιόντων K⁺, από

Εικόνα 4.2

Είσοδος ιόντων Na⁺ προκαλεί εκπόλωση του κυττάρου, ενώ είσοδος ιόντων Cl⁻ προκαλεί υπερπόλωση. Το δυναμικό επανέρχεται γρήγορα στην κατάσταση ηρεμίας από τα μονίμως ανοιχτά κανάλια K⁺, από τα οποία εξέρχονται ιόντα K⁺. Όσον αφορά την υπερπόλωση λόγω Cl⁻, το δυναμικό επανέρχεται και από συμμεταφορείς K⁺/Cl⁻ που ταυτόχρονα με το K⁺ εξάγουν και Cl⁻.



μονίμως ανοιχτά κανάλια K^+ (βλ. σσ. 181-183, Κανάλια K^+ με 2-P-βρόχους).

Μια μικρή κατηγορία κυττάρων που ονομάζονται **διεγέρσιμα κύτταρα** (excitable cells), όπως τα νευρικά, τα μυϊκά (σκελετικά και καρδιακά) και τα κύτταρα των αδένων (π.χ. τα β-κύτταρα του παγκρέατος), μετατρέπουν ένα ισχυρό σήμα εκπόλωσης σε δυναμικά δράσης, τα οποία είναι κύματα εκπόλωσης που μεταφέρονται με ταχύτητα έως και 120 m/sec κατά μήκος της μεμβράνης. Το αποτέλεσμα των δυναμικών δράσης είναι η απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή από τα νευρικά κύτταρα, η σύσπαση των μυϊκών κυττάρων ή η απελευθέρωση, για παράδειγμα, της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος.

1.2 Το δυναμικό δράσης των διεγερσιμων κυττάρων

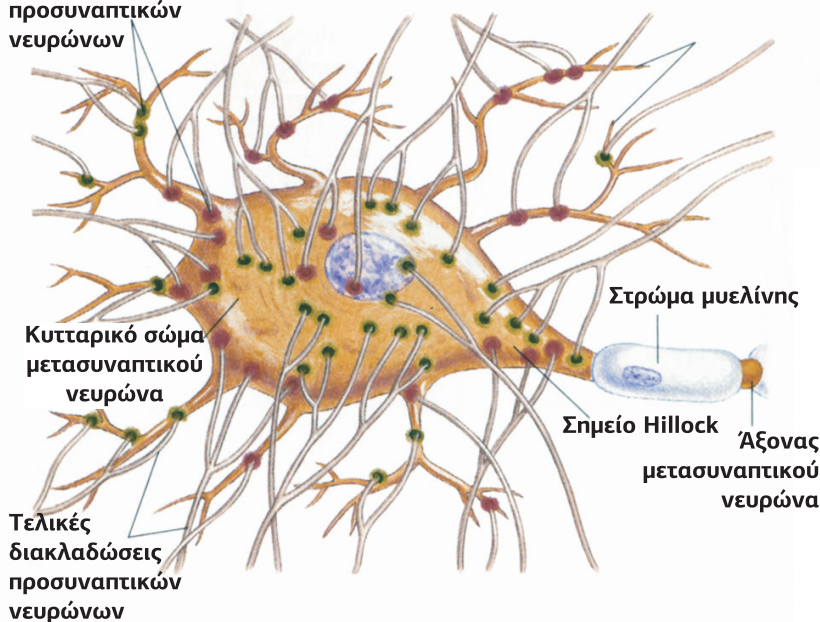
Το δυναμικό δράσης δημιουργείται όταν ένα ερέθισμα οδηγεί σε αύξηση του δυναμικού ηρεμίας σε μια οριακή τιμή, περίπου 15 mV λιγότερο αρνητική από την τιμή του δυναμικού ηρεμίας, ξεχωριστή και συγκεκριμένη για κάθε τύπο διεγερσιμου κυττάρου. Η τιμή αυτή του δυναμικού ονομάζεται **ουδός ενεργοποίησης** του κυττάρου. Στην περίπτωση των νευρώνων, οι οποίοι δέχονται έναν μεγάλο αριθμό διεγερτικών και ανασταλτικών συνάψεων (**Εικόνα 4.3**), τα τοπικά δυναμικά που παράγονται συγχρόνως στους δενδρίτες και τα οποία μπορεί να είναι ανασταλτικά μετασυναπτικά δυναμικά (ipsp, inhibitory postsynaptic potentials) ή διεγερτικά (epsp, excitatory postsynaptic potentials), αθροίζονται στη **ζώνη εκκίνησης ή σημείο του Hillock**, που βρίσκεται στον πρώτο κόμβο του Ranvier του εμμύελου νευράξονα (**Εικόνα 4.4**). Εάν το άθροισμα των δυναμικών είναι μικρότερο από την οριακή τιμή - ουδό ενεργοποίησης, τότε δεν θα συμβεί τίποτε περισσότερο από μια απλή τοπική εκπόλωση, η οποία δεν θα έχει ως αποτέλεσμα την απόκριση του κυττάρου στο ερέθισμα. Εάν το άθροισμα των δυναμικών φτάσει στην οριακή τιμή, τότε δημιουργείται το **δυναμικό δράσης**.

Το δυναμικό δράσης δημιουργείται μόνο στις διεγέρσιμες μεμβράνες από ειδικά τασηο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και K^+ , που είναι τοποθετημένα με τέτοιο τρόπο, ώστε να ενεργοποιούν το ένα το άλλο. Αρχικά, όταν το δυναμικό ηρεμίας υπερβεί την ουδό ενεργοποίησης, ανοίγουν τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια ιόντων Na^+ , προκαλώντας την είσοδο ιόντων Na^+ στο κυτταρόπλασμα. Όταν το δυναμικό της

Εικόνα 4.3

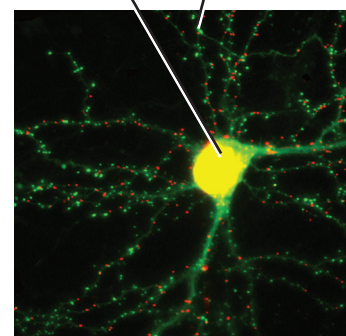
Ο κάθε νευρώνας δέχεται εκατοντάδες συνάψεις, διεγερτικές και ανασταλτικές. Το σύνολο των τοπικών μετασυναπτικών δυναμικών που δημιουργούνται αθροίζονται στη ζώνη εκκίνησης του νευράξονα ή σημείο του Hillock.

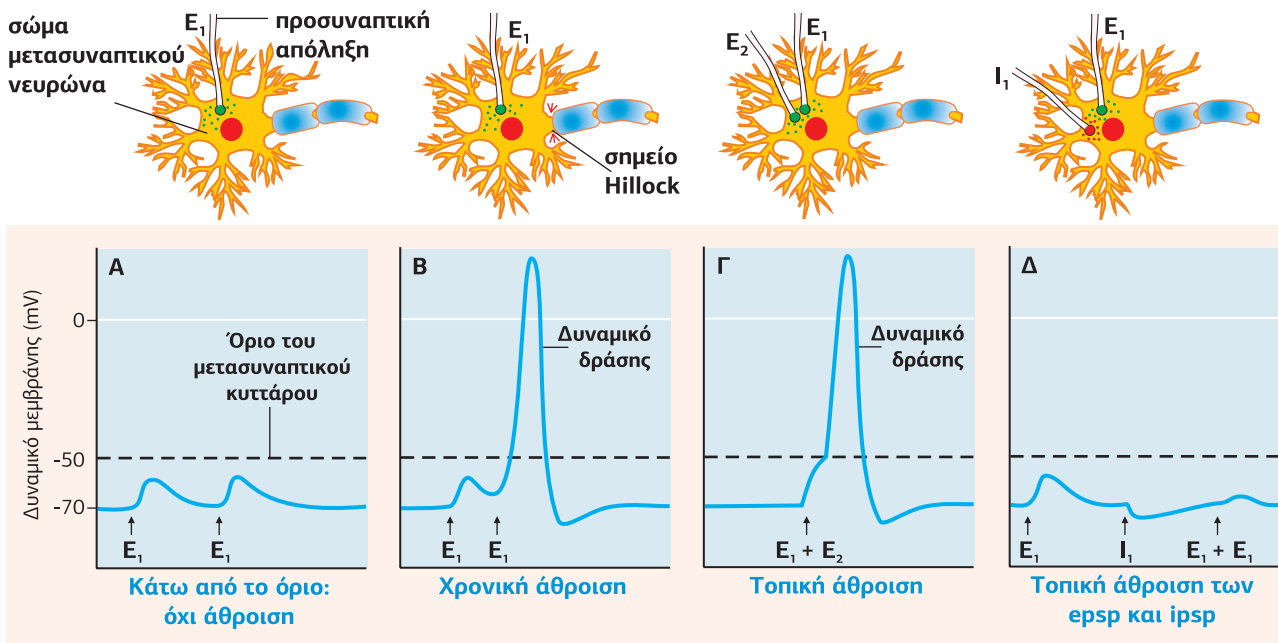
Συναπτικές απολήξεις
προσυναπτικών
νευρώνων



● Διεγερτική σύναψη
● Ανασταλτική σύναψη

Κυτταρικό
σώμα
μετασυναπτικού
νευρώνα





Εικόνα 4.4
Το σύνολο των τοπικών μετασυναπτικών δυναμικών, που παράγονται στους δενδρίτες, αθροίζονται στη ζώνη εκκίνησης του νευρώνα ή σημείο του Hillock.

A. Δύο διεγερτικά μετασυναπτικά δυναμικά (E_1 και E_2) δεν αθροίζονται όταν α. η αλλαγή στο δυναμικό της μεμβράνης που προκαλεί το 1ο ερέθισμα είναι πολύ σύντομη και β. το δυναμικό του κυττάρου έχει ήδη επιστρέψει στην κατάσταση ηρεμίας μετά τον δεύτερο ερεθισμό του μετασυναπτικού νευρώνα. B. Δύο διεγερτικά δυναμικά (E_1 και E_2) αθροίζονται και δημιουργείται μια μεγαλύτερη εκπόλωση, όταν ο νευρώνας ερεθίζεται για 2η φορά πριν εκφυλιστεί το πρώτο διεγερτικό δυναμικό (χρονική άθροιση). Γ. Δύο διεγερτικά μετασυναπτικά δυναμικά (E_1 και E_2) αθροίζονται όταν ο νευρώνας ερεθίζεται ταυτόχρονα από δύο συνάψεις (τοπική άθροιση). Δ. Ο νευρώνας ερεθίζεται ταυτόχρονα από δύο συνάψεις, μια διεγερτική και μια ανασταλτική, και λόγω της άθροισης του διεγερτικού (E_1) και του ανασταλτικού δυναμικού (I_1), που ακυρώνει το ένα το άλλο, δεν υπάρχει μεταβολή στο δυναμικό της μεμβράνης (τοπική άθροιση).

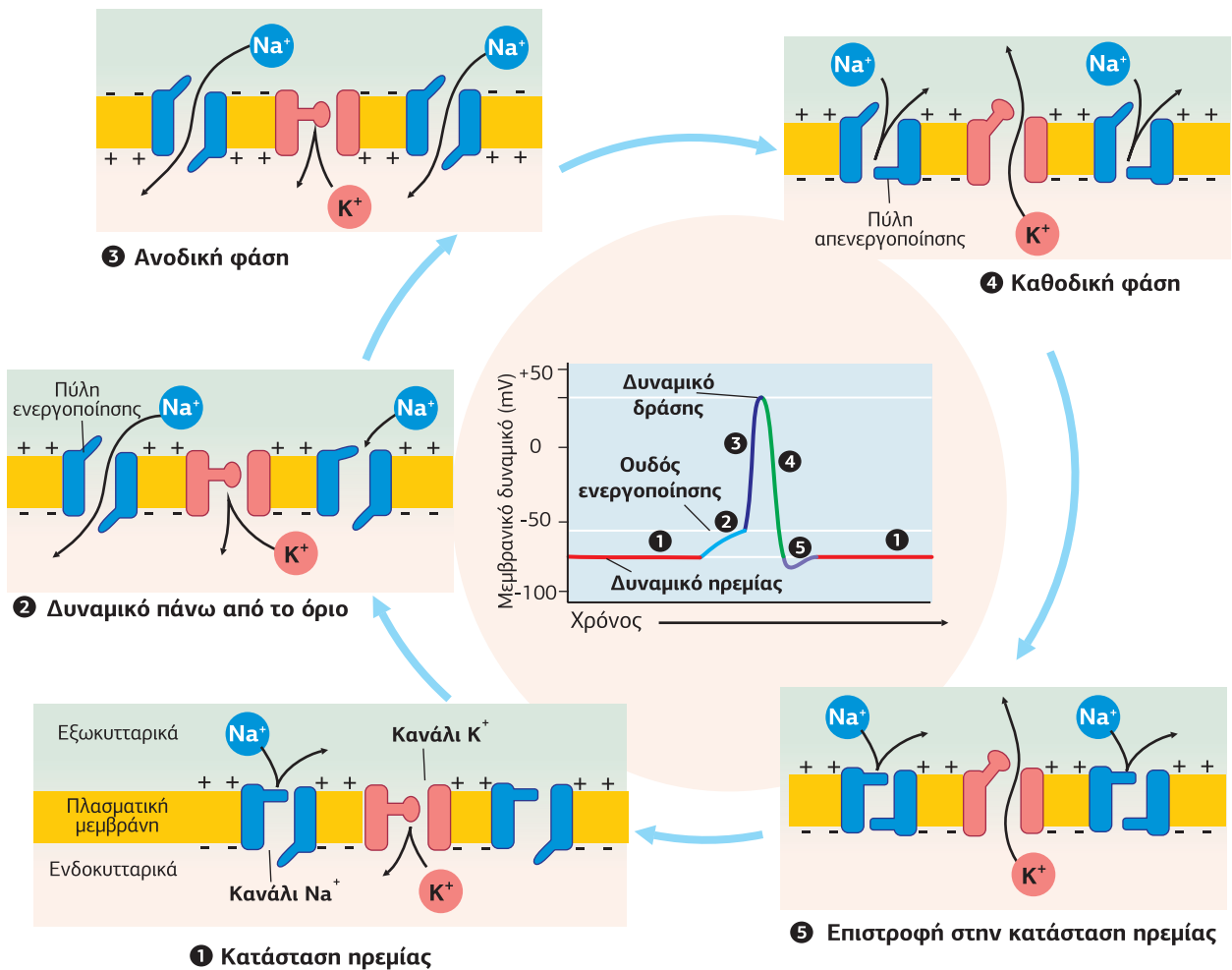
μεμβράνης φτάσει τοπικά στα +40 mV, τα κανάλια Na^+ κλείνουν (μένουν ανοικτά μόνο για λίγα msec) και ανοίγουν τασηο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , τα οποία προκαλούν την έξοδο ιόντων K^+ από το κυτταρόπλασμα προς τον εξωκυτταρικό χώρο (**Εικόνα 4.5** και **4.6**). Τα ιόντα Na^+ έχουν την τάση να εισέρχονται στο κύτταρο λόγω της μεγάλης εξωκυτταρικής τους συγκέντρωσης, ενώ τα ιόντα K^+ έχουν την τάση να εξέρχονται από το κύτταρο λόγω της μεγάλης ενδοκυτταρικής τους συγκέντρωσης.

Το δυναμικό δράσης είναι του τύπου “**όλα ή τίποτα**”. Δημιουργείται, δηλαδή, μόνο όταν το δυναμικό του κυττάρου υπερβεί μια οριακή τιμή και από τη στιγμή που θα δημιουργηθεί, έχει πάντα απόλυτο μέγεθος 110 mV (από -70 mV σε +40 mV = 110 mV) και καθορισμένη διάρκεια, ανεξάρτητα από την ένταση ή τη διάρκεια του ερεθίσματος. Η διάρκεια του δυναμικού δράσης εξαρτάται από το είδος του κυττάρου, π.χ. διαρκεί 1 msec στα νευρικά και σκελετικά μυϊκά κύτταρα και 400 msec στα καρδιακά μυϊκά κύτταρα. Η ένταση του ερεθίσματος επηρεάζει τη συχνότητα εμφάνισης των δυναμικών δράσης, ενώ η διάρκεια του ερεθίσματος καθορίζει τον αριθμό των δυναμικών δράσης που δημιουργούνται.

Στα νευρικά κύτταρα, το δυναμικό δράσης είναι ο μεταδιδόμενος νευρικός παλμός κατά μήκος του νευράξονα. Όταν ο νευράξονας είναι αμύελος, τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και K^+ βρίσκονται σε όλο το μήκος του νευράξονα και η μετάδοση του δυναμικού δράσης είναι σχετικά αργή (π.χ. σε έναν νευράξονα που κατευθύνεται προς τα εσωτερικά όργανα η ταχύτητα αγωγής του νευρικού παλμού είναι 2 m/sec). Αντιθέτως, σε έναν εμύελο άξονα τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και K^+ βρίσκονται μόνο στους κόμβους του Ranvier και το δυναμικό δράσης μεταφέρεται από κόμβο του Ranvier σε κόμβο του Ranvier κατά μήκος του νευράξονα, με πηδήματα (saltatory transmission) (**Εικόνα 4.7**). Σε αυτή την περίπτωση, η μετάδοση του νευρικού παλμού είναι πολύ γρήγορη (π.χ. σε ένα φαρδύ κινητήριο εμύελο άξονα που κατευθύνεται προς τον μυ του ανθρώπινου ποδιού, η ταχύτητα αγωγής του νευρικού παλμού είναι 120 m/sec).

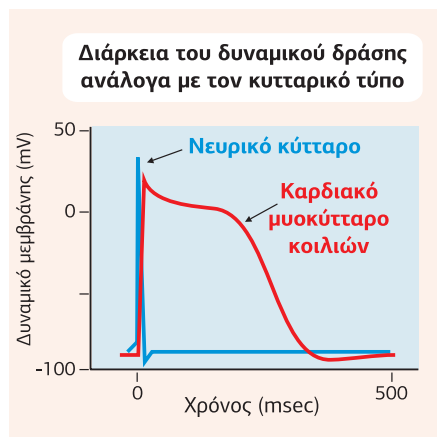
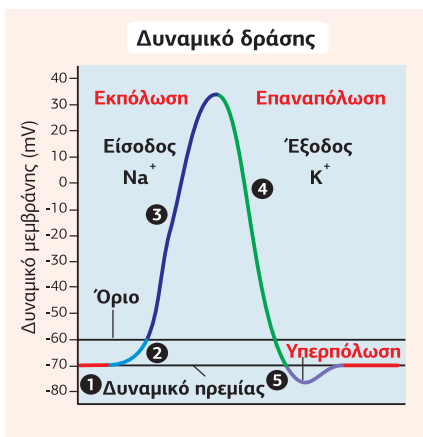
Σε αντίθεση με τα τοπικά μετασυναπτικά δυναμικά, των οποίων το μέγεθος ελαττώνεται όσο απομακρύνονται από το σημείο δημιουργίας τους, τα δυναμικά δράσης διατηρούν τη σταθερή τιμή τους, καθώς μεταφέρονται κατά μήκος του νευράξονα, σε μια απόσταση που μπορεί να φτάσει έως και 3 μέτρα.

Το δυναμικό δράσης, αφού διασχίσει όλο τον νευράξονα, φτάνει στο συναπτικό άκρο του νευρώνα, όπου διεγείρει την **απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή**. Οι νευροδιαβιβαστές είναι αποθηκευμένοι σε συναπτικά κυστίδια, τα οποία βρίσκονται



Εικόνα 4.5

Κατάσταση των τασο-εξαρτώμενων καναλιών Na^+ και K^+ κατά τη δημιουργία δυναμικού δράσης. 1. Κατάσταση ηρεμίας. 2. Όταν το δυναμικό ξεπερνά την ουδό ενεργοποίησης ανοίγουν τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ . 3. Ανοδική φάση του δυναμικού δράσης λόγω εισόδου ιόντων Na^+ από τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια. 4. Καθοδική φάση του δυναμικού δράσης λόγω εξόδου K^+ από τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ . 5. Μετά από μια σύντομη φάση υπερπόλωσης, λόγω των ανοικτών καναλιών K^+ , το δυναμικό επιστρέφει στην κατάσταση ηρεμίας.

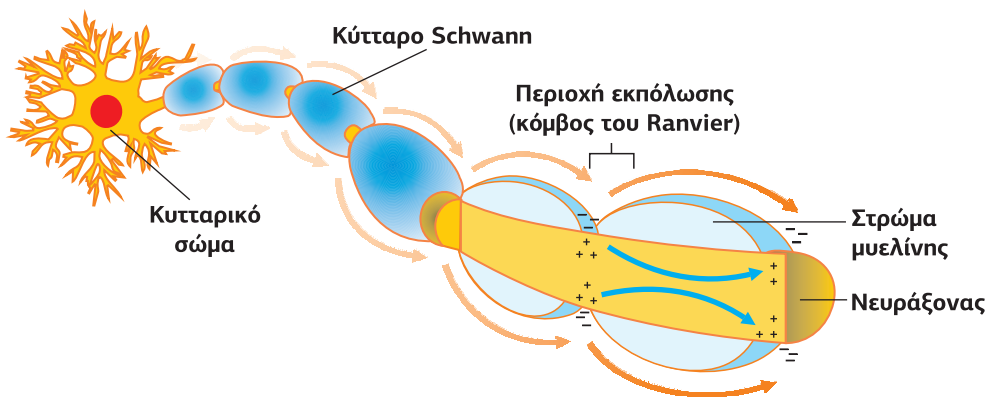


Εικόνα 4.6

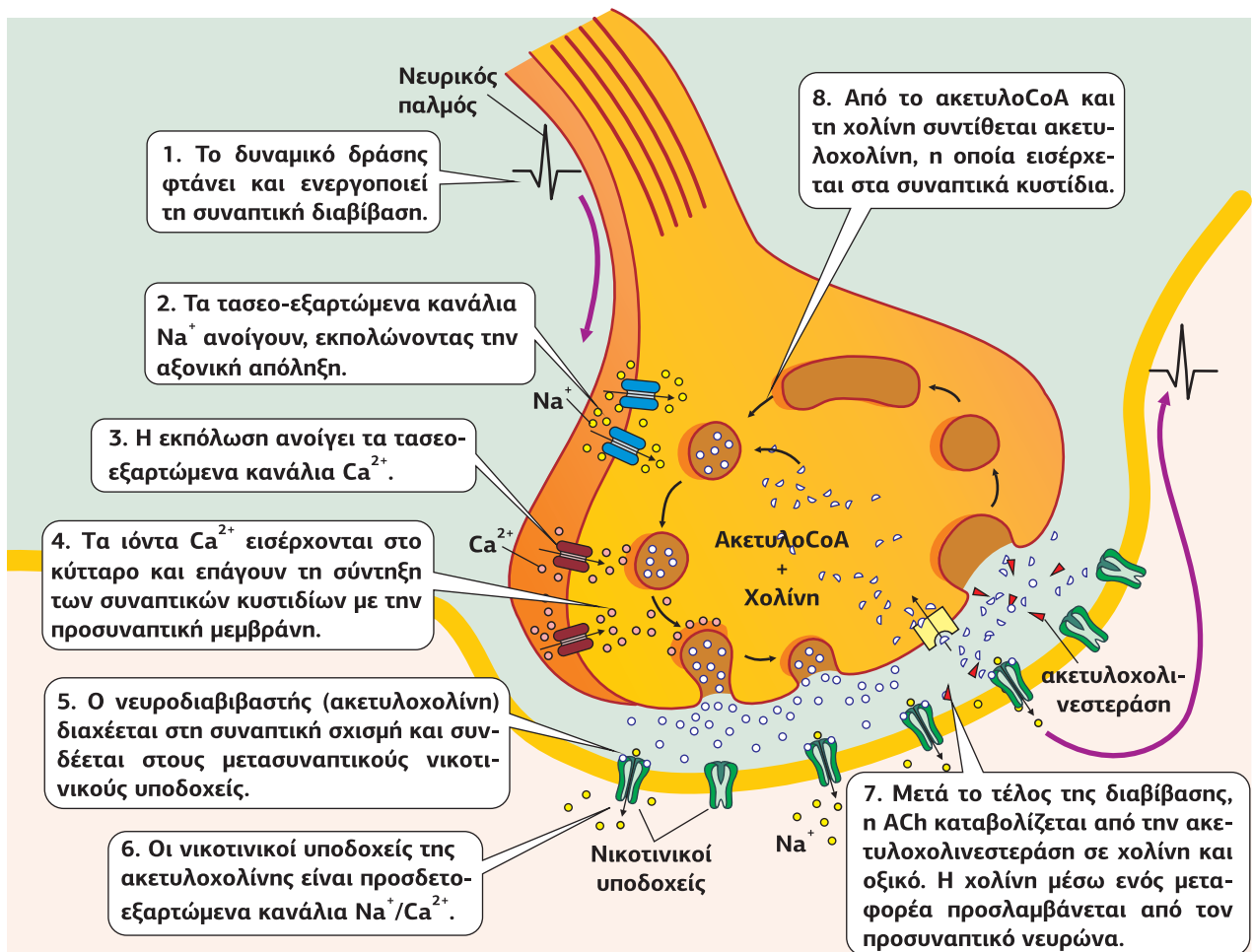
Όταν το δυναμικό ενός διεγερσιμου κυττάρου φτάσει στην ουδό ενεργοποίησης, τότε δημιουργείται το δυναμικό δράσης. Ανοίγουν ειδικά τασο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ , προκαλώντας την είσοδο των ιόντων Na^+ στο κυτταρόπλασμα. Όταν το δυναμικό της μεμβράνης φτάσει τοπικά στα +40 mV, τα κανάλια Na^+ κλείνουν και ανοίγουν τα κανάλια K^+ , τα οποία προκαλούν την έξοδο ιόντων K^+ από το κυτταρόπλασμα προς τον εξωκυτταρικό χώρο και την επαναπόλωση του κυττάρου. Η διάρκεια του δυναμικού δράσης εξαρτάται από το είδος του κυττάρου, π.χ. διαρκεί 1 msec στα νευρικά και σκελετικά μνικά κύτταρα και 400 msec στα καρδιακά μνικά κύτταρα των κοιλιών.

Εικόνα 4.7

Μεταφορά ενός δυναμικού δράσης με πηδήματα κατά μήκος ενός εμμέλου άξονα, από έναν κόμβο του Ranvier στον επόμενο, όπου υπάρχουν τα ειδικά τασο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και K^+ .

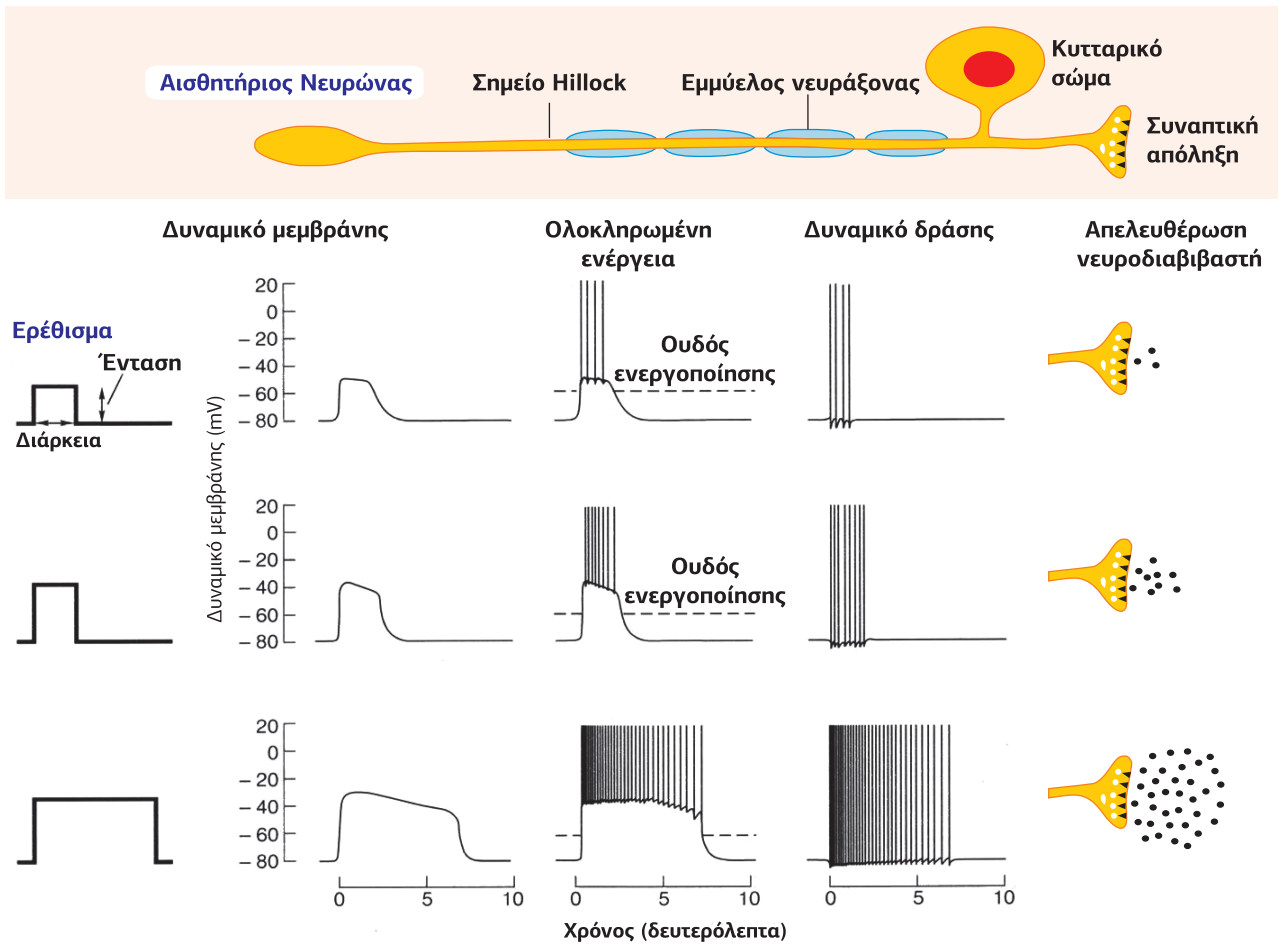


στο συναπτικό άκρο του νευρώνα. Όταν το δυναμικό δράσης φτάσει στην απόληξη του νευρώνα, προκαλεί το άνοιγμα τασο-εξαρτώμενων καναλιών Ca^{2+} , αυξάνοντας κατά 1.000 φορές τη συγκέντρωση ιόντων Ca^{2+} στη σύναψη. Η μεγάλη αυτή αύξηση της συγκέντρωσης ιόντων Ca^{2+} προκαλεί με τη σειρά της σύντηξη των κυ-



Εικόνα 4.8

Μεταφορά του δυναμικού δράσης στο συναπτικό άκρο του νευρώνα οδηγεί σε είσοδο ιόντων Ca^{2+} από τασο-εξαρτώμενα κανάλια. Η αύξηση της συγκέντρωσης του Ca^{2+} οδηγεί στη σύντηξη των συναπτικών κυστιδίων με τη μεμβράνη και στην απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή. Η εικόνα απεικονίζει μια χολινεργική σύναψη, όπου η απελευθερωμένη ακετυλοχολίνη συνδέεται και ενεργοποιεί τους νικοτινικούς υποδοχείς κανάλια $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ του μετασυναπτικού κυττάρου. Στη συνέχεια, η ακετυλοχολίνη καταβολίζεται από το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση σε οξικό οξύ και χολίνη. Η χολίνη προσλαμβάνεται από τον προσυναπτικό νευρώνα, όπου ανακυκλώνεται.



στιδίων με τη συναπτική κυτταρική μεμβράνη και απελευθέρωση του περιεχομένου τους στη συναπτική σχισμή (**Εικόνα 4.8**).

Ο νευροδιαβιβαστής απελευθερώνεται στη συναπτική σχισμή κατά quanta, με την άφιξη κάθε δυναμικού δράσης. Συνεπώς, ο αριθμός και η συχνότητα των δυναμικών δράσης που φτάνουν στη σύναψη καθορίζουν και την ποσότητα του νευροδιαβιβαστή που απελευθερώνεται (**Εικόνα 4.9**). Στη συνέχεια, τα απελευθερωμένα μόρια του νευροδιαβιβαστή διαχέονται στη συναπτική σχισμή. Ο νευροδιαβιβαστής ως μη λιπόφιλο μόριο δεν μπορεί να διαπεράσει την κυτταρική μεμβράνη του μετασυναπτικού κυττάρου κι έτσι συνδέεται σε μεμβρανικούς υποδοχείς μεταφέροντας το μήνυμα στο κύτταρο στόχο.

Ο ρόλος των δυναμικών δράσης στη σύσπαση των μυϊκών κυττάρων

Στα σκελετικά μυϊκά κύτταρα τα δυναμικά δράσης έχουν παρόμοια διάρκεια και μορφή με τα δυναμικά δράσης που παράγονται στους νευρώνες, ενώ διαφέρουν στο εντατικό έναυσμα και στο αποτέλεσμα. Η δημιουργία των δυναμικών δράσης στα σκελετικά μυϊκά κύτταρα επάγεται από την ακετυλοχολίνη, η οποία απελευθερώνεται στη νευρομυϊκή σύναψη από έναν φαρδύ εμμέλο κινητήριο νευρώνα. Η ακετυλοχολίνη συνδέεται στους νικοτινικούς υποδοχείς κανάλια $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ των μυϊκών κυττάρων. Ως απόκριση, οι νικοτινικοί υποδοχείς ανοίγουν, εισέρχεται $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ και παράγεται μια τοπική εκπόλωση της πλασματικής μεμβράνης ή σαρκείλημα. Εάν η τιμή της εκπόλωσης υπερβεί την ουδό ενεργοποίησης του σκελετικού μυϊκού κυττάρου, παράγεται δυναμικό δράσης, δηλαδή ανοίγουν τασεο-ευαίσθητα κανάλια Na^+ , τα οποία γρήγορα απευαισθητοποιούνται και η μεμβράνη επαναπολώνεται μέσω της εξόδου ιόντων K^+ . Η διαφορά με τα νευρι-

Εικόνα 4.9

Το δυναμικό δράσης δημιουργείται μόλις η ένταση του ερεθίσματος και συνεπώς το δυναμικό της μεμβράνης ξεπεράσει μια ορισμένη οριακή τιμή (την ουδό ενεργοποίησης). Η συχνότητα των δυναμικών δράσης είναι ανάλογη με την ένταση του ερεθίσματος: όσο ισχυρότερο είναι το ερέθισμα τόσο μεγαλύτερη είναι η συχνότητα, ενώ το μέγεθός τους παραμένει σταθερό. Το αποτέλεσμα των δυναμικών δράσης είναι η απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή.

Η πλασματική μεμβράνη των σκελετικών μυϊκών κυττάρων ονομάζεται **σαρκείλημα**.

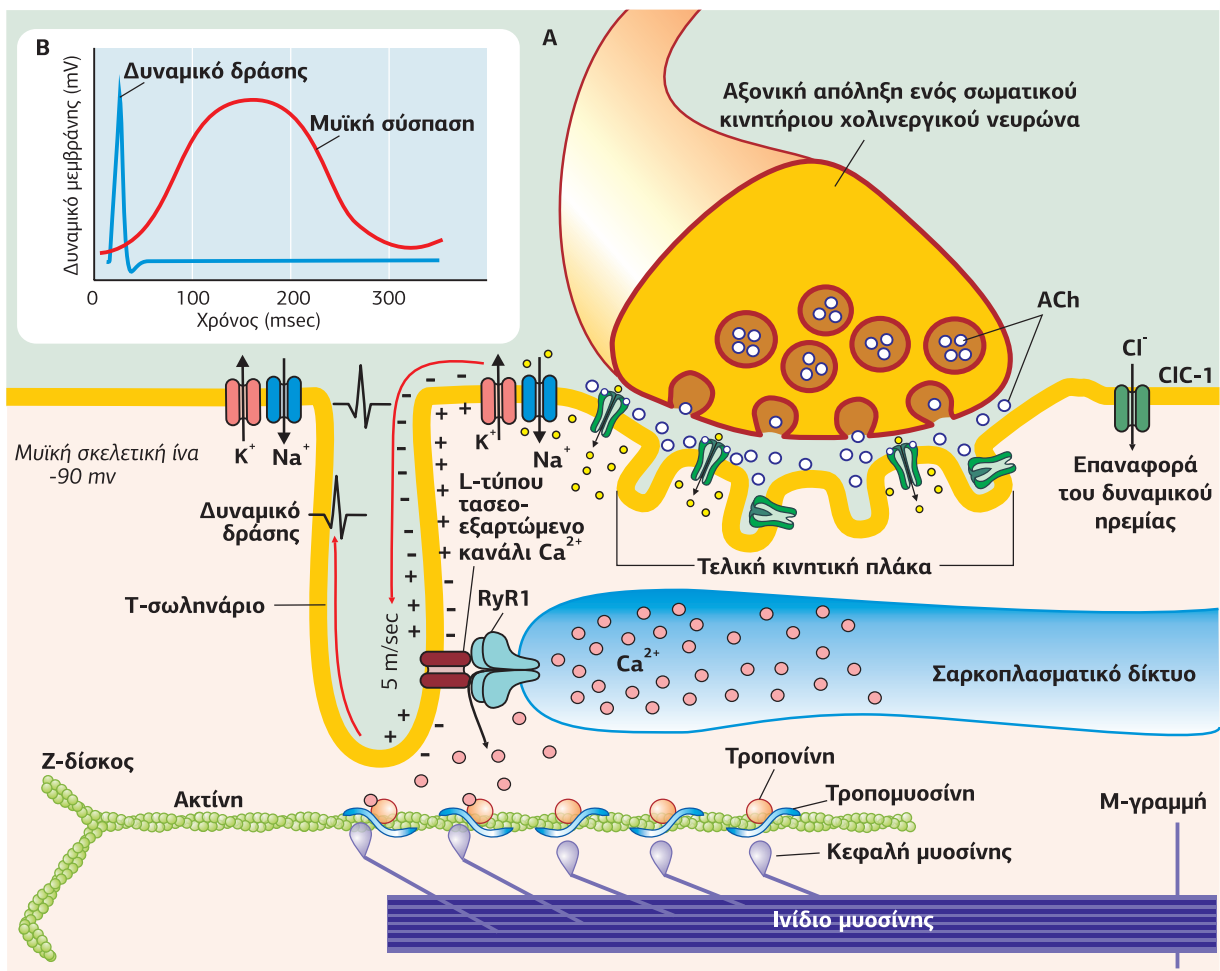
Εικόνα 4.10

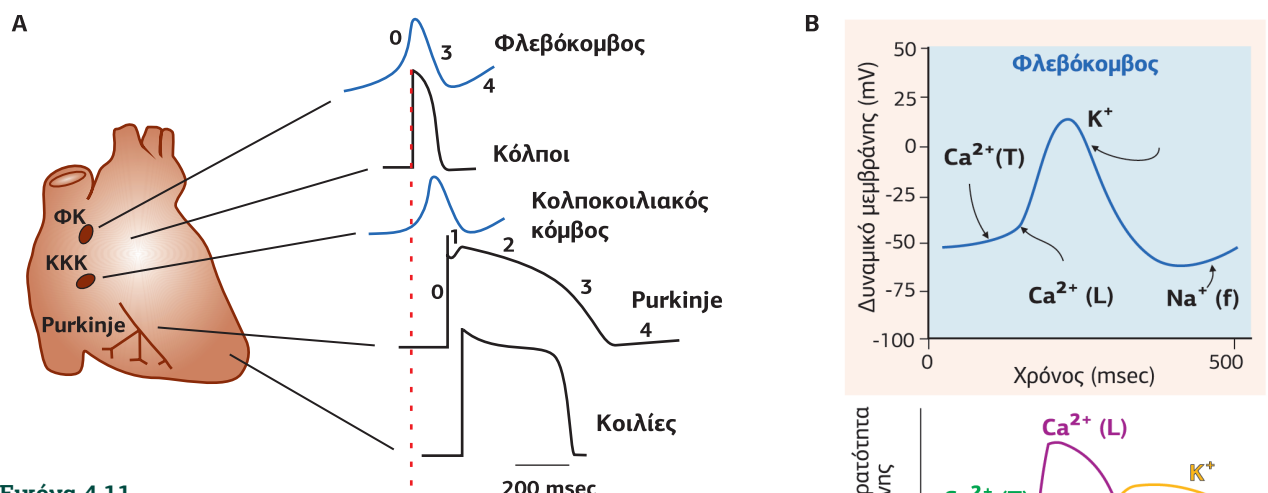
A. Το δυναμικό δράσης στα σκελετικά μυϊκά κύτταρα δημιουργείται από την εκπόλωση που προκαλεί η σύνδεση της ακετυλοχολίνης στους νικοτινικούς υποδοχείς κανάλια Na^+/Ca^{2+} . Το δυναμικό δράσης μεταφέρεται κατά μήκος της μεμβράνης και των T-σωληναρίων, οδηγώντας στην αλλαγή διαμόρφωσης L-τύπου τασο-εξαρτώμενων καναλιών Ca^{2+} που συνδέονται με τα κανάλια Ca^{2+} (RyR1) του ΣΔ, προκαλώντας το άνοιγμά τους (βλ. Εικόνα 4.42). Το Ca^{2+} συνδέεται στην τροπονίνη προκαλώντας τη μετακίνηση της τροπομυοσίνης. Οι θέσεις πρόσδεσης ακτίνης-μυοσίνης απελευθερώνονται και ενεργοποιείται η διαδικασία της σύσπασης. **B.** Η αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} συμβαίνει μετά το τέλος του δυναμικού δράσης και οδηγεί στη σύσπαση του μυϊκού κυττάρου.

κά κύτταρα είναι ότι το κάθε σκελετικό μυϊκό κύτταρο δέχεται σύναψη από έναν μόνο κινητήριο νευρώνα, η οποία είναι πάντα διεγερτική. Συνεπώς, το αν η τιμή εκπόλωσης υπερβεί ή όχι την ουδό ενεργοποίησης εξαρτάται από τη συγκέντρωση της ACh που απελευθερώνεται.

Το δυναμικό ηρεμίας ενός σκελετικού μυϊκού κυττάρου είναι συνήθως -90 mV, ελαφρώς πιο αρνητικό από ό,τι σε έναν τυπικό νευρώνα. Το δυναμικό δράσης διαρκεί περίπου 1-2 msec και μεταδίδεται κατά μήκος της μεμβράνης του μυϊκού κυττάρου με ταχύτητα περίπου 5 m/sec, με μηχανισμό όμοιο με του νευράξονα. Το τελικό αποτέλεσμα του δυναμικού δράσης είναι η σύσπαση του μυϊκού κυττάρου. Ωστόσο, το δυναμικό δράσης ολοκληρώνεται προτού εκδηλωθεί οποιοδήποτε σημάδι μηχανικής δραστηριότητας. Αυτό συμβαίνει γιατί το άμεσο αποτέλεσμα του δυναμικού δράσης είναι η αύξηση της συγκέντρωσης του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} , η οποία στη συνέχεια ενεργοποιεί τον μηχανισμό συστολής και τον κρατά δραστηριοποιημένο αρκετό χρόνο μετά την παύση της ηλεκτρικής δραστηριότητας της μεμβράνης. Ως αποτέλεσμα, η μηχανική δραστηριότητα μπορεί να διαρκέσει 100 ή και περισσότερα msec.

Πιο συγκεκριμένα, μόλις ξεκινήσει ένα δυναμικό δράσης στο σαρκείλημα μεταφέρεται ταχύτατα όχι μόνο στην επιφάνεια της μεμβράνης, αλλά και στο εσωτερικό του κυττάρου μέσω των T-σωληναρίων. Όταν ένα δυναμικό δράσης φτάνει στα T-σωληνάκια, ενεργοποιεί το άνοιγμα L-τύπου καναλιών Ca^{2+} που συνδέονται με υποδοχείς RyR1 του σαρκοπλασματικού δικτύου (υποδοχείς ρυανοδίνης, RyR1). Το Ca^{2+} συνδέεται στην τροπονίνη προκαλώντας τη μετακίνηση της τροπομυοσίνης. Ως αποτέλεσμα, απελευθερώνονται οι θέσεις πρόσδεσης ακτίνης-μυοσίνης και ενεργοποιείται η διαδικασία της σύσπασης του μυϊκού κυττάρου (Εικόνα 4.10).





Εικόνα 4.11

A. Τα δυναμικά δράσης στα καρδιακά μυοκύτταρα έχουν διαφορετική μορφή, ανάλογα με το τμήμα της καρδιάς. Β. Τα δδ του φλεβόκομβου δημιουργούνται αυτόματα. Η ανοδική τους φάση οφείλεται στην είσοδο Ca^{2+} από T- και L-τύπου τάση-εξαρτώμενα κανάλια, η καθοδική φάση στην έξοδο K^+ από τάση-εξαρτώμενα κανάλια I_{KR} και I_{KS} , και το ρεύμα επαναπόλωσης - βηματοδότης είναι ένα ρεύμα εισόδου Na^+ από κανάλια HCN.

Στην καρδιά η μορφή των δυναμικών δράσης διαφέρει από περιοχή σε περιοχή. Στον φλεβόκομβο, που χαρακτηρίζεται ο βηματοδότης της καρδιάς καθώς δημιουργεί τα δυναμικά δράσης χωρίς εξωτερικό ερέθισμα, η ανοδική φάση των δδ οφείλεται σε ένα σχετικά αργό ρεύμα εισόδου Ca^{2+} από T- και L-τύπου τάση-εξαρτώμενα κανάλια (και όχι στο γρήγορο ρεύμα Na^+ , όπως στα δδ των νευρώνων ή των σκελετικών μυών), η καθοδική φάση στην έξοδο K^+ από τάση-εξαρτώμενα κανάλια I_{KR} και I_{KS} , και το ρεύμα επαναπόλωσης είναι ένα “funny current” εισόδου Na^+ από τα κανάλια HCN, τα οποία ανοίγουν όταν το δυναμικό φτάσει στα -60 mV (βλ. σσ. 161-162, **Εικόνα 4.36**) και είναι υπεύθυνα για την αυτοματία. Το μέγεθος των δυναμικών αυτών είναι περίπου 50 mV (από -50 mV σε 0 mV) και η διάρκειά τους 150-200 msec. Τα δυναμικά δράσης από τον φλεβόκομβο μεταφέρονται σε όλη την καρδιά μέσω χασμοσυνδέσμων. Όταν φτάσουν στις ίνες του Purkinje και στις κοιλίες παίρνουν μια τελείως διαφορετική μορφή: η ανοδική τους φάση οφείλεται στην είσοδο Na^+ από τάση-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και συνέχεια δημιουργείται ένα plateau-υψίπεδο, διάρκειας περίπου 300 msec, λόγω της εισόδου Ca^{2+} από L-τύπου κανάλια, που εξισορροπεί την έξοδο K^+ . Το δδ επανέρχεται στην τιμή ηρεμίας λόγω της εξόδου K^+ από 4 διαφορετικούς τύπους καναλιών (I_{Kur} , I_{Kr} , I_{Ks} και I_{Kir}) (βλ. **Εικόνα 4.30**). Τα δυναμικά αυτά έχουν μέγεθος 110 mV (από -90 mV σε 20 mV) και διάρκεια 300 msec.

Ο μηχανισμός με τον οποίο τα δυναμικά δράσης επάγουν τη μυϊκή σύσπαση στην καρδιά διαφέρει από αυτόν των σκελετικών μυϊκών κυττάρων. Στα σκελετικά μυϊκά κύτταρα τα δυναμικά δράσης, διάρκειας 1-2 msec, αλλάζοντας τη διαμόρφωση των καναλιών Ca^{2+} L-τύπου που είναι άμεσα συνδεδεμένα με τους RyR1, πυροδοτούν την απελευθέρωση Ca^{2+} από το σαρκοπλασματικό δίκτυο, σε αντίθεση με τα δυναμικά δράσης των Ινών Purkinje και των κοιλιών, τα οποία έχουν μεγαλύτερη διάρκεια, 400 msec, και στα οποία είναι ενσωματωμένη η είσοδος Ca^{2+} από τα L-τύπου κανάλια. Η μικρή και τοπική αύξηση του Ca^{2+} οδηγεί στο άνοιγμα καναλιών Ca^{2+} του σαρκοπλασματικού δικτύου (RyR2), προκαλώντας μια μεγάλη και καθαρή αύξηση του Ca^{2+} , η οποία ονομάζεται ασβεστίο-εξαρτώμενη απελευθέρωση ασβεστίου, και είναι αυτή που προκαλεί τη σύσπαση του μυϊκού κυττάρου (**Εικόνα 4.11**).

Η συχνότητα των δυναμικών δράσης της καρδιάς μπορεί να αυξηθεί, με την επίδραση της αδρεναλίνης (βλ. σσ. 161-162, και σελ. 280), ή να μειωθεί με την επίδραση της ακετυλοχολίνης (βλ. σελ. 178).

2. Ταξινόμηση των καναλιών σύμφωνα με το είδος ιόντων, τον τρόπο ελέγχου της ροής και τη δομή

Υπάρχουν περισσότεροι από 300 τύποι καναλιών ιόντων στα ζωντανά κύτταρα. Αρχικά ταξινομούνται σε δύο μεγάλες και τελείως ξεχωριστές οικογένειες με βάση το είδος των ιόντων που μεταφέρουν, στην **οικογένεια καναλιών κατιόντων** (Na^+ , K^+ , H^+ και Ca^{2+}) και στην **οικογένεια των καναλιών ανιόντων** (κυρίως Cl^-). Αυτό που καθορίζει την εξειδίκευση ενός καναλιού σε κατιόντα ή ανιόντα είναι τα αμινοξέα που καλύπτουν το στόμιο-πύλη του καναλιού. Οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στο κανάλι και στο ιόν που διέρχεται, πρέπει να είναι πολύ ασθενείς, γιατί αλλιώς η μεταφορά του ιόντος θα ήταν πολύ αργή, ενώ στην πραγματικότητα πλησιάζει τον ρυθμό της ελεύθερης διάχυσης (10^7 ιόντα/sec). Κατά συνέπεια, στο στόμιο του πόρου του καναλιού αποφεύγονται τα πολύ φορτισμένα αμινοξέα, με πλευρικές καρβοξυλομάδες (COO^-) ή αμινομάδες (NH_3^+). Αντί αυτού, ο πόρος των καναλιών κατιόντων καλύπτεται από καρβονυλικές ομάδες (C=O) της κύριας αλυσίδας, ενώ των καναλιών ανιόντων από αμιδικές ομάδες (N-H) της κύριας αλυσίδας.

Τα κανάλια μπορούν επίσης να ταξινομηθούν ανάλογα με τον μηχανισμό που ελέγχει το άνοιγμα του πόρου και κατά συνέπεια τη ροή των ιόντων. Όπως οι περισσότερες σηματοδοτικές πρωτεΐνες, τα κανάλια ιόντων βρίσκονται σε τουλάχιστον δύο διαμορφώσεις, μια ενεργή (ανοιχτή) και μια ανενεργή (κλειστή). Αυτές οι διαμορφώσεις βρίσκονται σε μια αλλοστερική ισορροπία, η οποία καθιστά τα κανάλια σηματο-ελεγχόμενους διακόπτες. Τα σήματα, τα οποία ελέγχουν το άνοιγμα ή το κλείσιμο του καναλιού, μπορεί να είναι ηλεκτρικά, χημικά, μηχανικά ή ακόμη και η θερμοκρασία. Συνεπώς, τα κανάλια με βάση το είδος του σήματος ταξινομούνται σε:

- **Τασεο-εξαρτώμενα κανάλια (voltage-gated)**, στα οποία η ροή των ιόντων ρυθμίζεται από αλλαγές στο δυναμικό της μεμβράνης. Στην οικογένεια αυτή ανήκουν τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ (9 μέλη με κύριο ρόλο τη δημιουργία δυναμικού δράσης), K^+ (40 μέλη με κύριο ρόλο την επαναπόλωση της μεμβράνης μετά την ανοδική φάση του δυναμικού δράσης), Ca^{2+} (10 μέλη με κύριο ρόλο τη σύνδεση της διέγερσης των μυϊκών κυττάρων με τη σύσπασή τους, καθώς και την απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή από νευρικά κύτταρα) και H^+ (ανοίγουν έπειτα από εκπόλωση, αλλά μόνο όταν η ηλεκτροχημική βαθμίδωση οδηγεί σε ρεύμα εξόδου, και κατά συνέπεια έχουν ως ρόλο την έξοδο πρωτονίων από το κύτταρο). Στην κατηγορία αυτή μπορούμε να συμπεριλάβουμε και την οικογένεια των καναλιών TRP (Transient Receptor Potential), που περιέχει 28 μέλη, τα οποία ρυθμίζονται από το δυναμικό, το pH, το Ca^{2+} , ακόμη και από μηχανική πίεση. Τα περισσότερα κανάλια TRP είναι κανάλια Ca^{2+} , ενώ ορισμένα δεν εμφανίζουν εξειδίκευση ως προς το κατιόν.
- **Προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια (ligand-gated)**, στα οποία η σύνδεση ενός συγκεκριμένου προσδέτη σε εξωκυτταρικά ή ενδοκυτταρικά δομικά στοιχεία της πρωτεΐνης οδηγεί στο άνοιγμα του καναλιού. Τα κανάλια των οποίων η πύλη ελέγχεται από εξωτερικούς προσδέτες (ακετυλοχολίνη, σεροτονίνη, γλουταμινικό, GABA, ATP) θεωρούνται ως κανάλια υποδοχείς. Δηλαδή, προσλαμβάνουν το εξωκυτταρικό μήνυμα και το μεταφέρουν στο εσωτερικό του κυττάρου στόχου, μεταβάλλοντας το δυναμικό ηρεμίας του. Τα κανάλια αυτά μπορεί να είναι μη εξειδικευμένα κανάλια κατιόντων (όπως οι νικοτινικοί υποδοχείς της ακετυλοχολίνης και οι σεροτονεργικοί $5\text{-HT}_3\text{Rs}$) είτε κανάλια ανιόντων (όπως οι ιοντοτροπικοί υποδοχείς $\text{GABA}_{A/C}$). Τα κανάλια, τα οποία εξαρτώνται από ενδοκυτταρικούς 2ου διαβιβαστές (cAMP, cGMP, IP_3), είναι μη εξειδικευμένα κανάλια κατιόντων, τα οποία δρουν ως τελεστές των σηματοδοτικών μονοπατιών και όχι ως υποδοχείς, με τη στενή έννοια του όρου.
- Κανάλια, τα οποία **ρυθμίζονται από άλλους μηχανισμούς**. Για παράδειγ-

μα, ο γλουταμινικός υποδοχέας κανάλι $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ NMDAR ρυθμίζεται ταυτόχρονα από το δυναμικό της μεμβράνης και από τη σύνδεση του προσδέτη (γλουταμινικό). Μια άλλη κατηγορία καναλιών που αποτελείται 15 μέλη είναι τα κανάλια επανορθωτικού ρεύματος K^+ (Inward-rectifier potassium channels), τα οποία ρυθμίζονται από το ενδοκυτταρικό ATP, τα φωσφολιπίδια ινσιτόλης PIP_2 και τις βγ υπομονάδες των G-πρωτεϊνών. Συμμετέχουν σε σημαντικές φυσιολογικές λειτουργίες, όπως η δραστηριότητα βηματοδότη της καρδιάς, η απελευθέρωση της ινσουλίνης και η πρόσληψη K^+ από τα νευρογλοιακά κύτταρα. Τέλος, η κατηγορία των τασεο-ευαίσθητων καναλιών K^+ που ενεργοποιούνται από την αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} (calcium-activated potassium channels) περιέχει 15 μέλη και έχει ως κύριο ρόλο τον έλεγχο της διάρκειας απελευθέρωσης του νευροδιαβιβαστή και της διάρκειας της σύσπασης των μυϊκών κυττάρων.

- **Μηχανο-ευαίσθητα κανάλια κατιόντων**, τα οποία ανοίγουν ως απάντηση στην παραμόρφωση της μεμβράνης και έχουν πολλούς ρόλους, κυρίως στα αισθητήρια συστήματα, όπως της αφής και της ακοής, όπου μεσολαβούν στη μηχανοηλεκτρική μεταγωγή μέσω τριχοκυττάρων.

Ένας τρίτος τρόπος ταξινόμησης των καναλιών είναι με βάση κάποια ειδικά χαρακτηριστικά της δομής τους. Τα κανάλια ιόντων είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες και συνήθως αποτελούνται από 2 έως 5 υπομονάδες, με πολλές διαμεμβρανικές περιοχές η καθεμία. Τα κανάλια κατιόντων, των οποίων οι υπομονάδες περιέχουν είτε 2 (S5-S6) είτε 6 διαμεμβρανικές περιοχές (S1-S6), εκ των οποίων η S5 συνδέεται με την S6 με έναν P-βρόχο, ανήκουν στη μεγαλύτερη οικογένεια καναλιών, που ονομάζεται **οικογένεια S5-S6**. Τα κανάλια αυτά μπορεί να είναι τασεο-εξαρτώμενα, προσδετο-εξαρτώμενα από ενδοκυτταρικούς προσδέτες ή κανάλια TRP κ.λπ. Ο P-βρόχος που σχηματίζεται ανάμεσα στην S5 και S6 διαμεμβρανική περιοχή παίζει τον ρόλο ενός φίλτρου διαπερατότητας, καθιστώντας τα κανάλια αυτής της οικογένειας εξειδικευμένα ως προς το ιόν που διέρχεται από αυτά. Η οικογένεια των προσδετο-εξαρτώμενων καναλιών υποδοχέων (πουρινεργικοί P2X, νικοτινικοί) δεν περιέχουν αυτόν τον P-βρόχο και, κατά συνέπεια, είναι διαπερατά σε Na^+ και Ca^{2+} . Τα κανάλια ανιόντων (Cl^-), εκτός των υποδοχέων GABA_A , έχουν μια τελείως ξεχωριστή δομή καθώς αποτελούνται από 12 διαμεμβρανικές περιοχές.

Τα κανάλια Kir διαδραματίζουν βασικό ρόλο στη ρύθμιση της συγκέντρωσης του εξωκυτταρικού K^+ μέσω της διαδικασίας "χωρικής ρύθμισης K^+ " (K^+ spatial buffering) ή "άντλησης K^+ " (K^+ siphoning). Η ρύθμιση του K^+ γενικά θεωρείται πρωταρχική λειτουργία των αστροκυττάρων, καθώς το K^+ που απελευθερώνεται κατά τη διάρκεια της δραστηριότητας των νευρώνων (κατά τη καθοδική φάση του δυναμικού δράσης) εισέρχεται στα νευρογλοιακά κύτταρα μέσω των Kir. Στον εγκέφαλο, το K^+ κατανέμεται στο συγκύτιο των αστροκυττάρων μέσω των κασμοσυνδέσμων.

2.1

Η μεγαλύτερη οικογένεια καναλιών κατιόντων, η υπεροικογένεια S5-S6

Η μεγαλύτερη οικογένεια καναλιών είναι η οικογένεια S5-S6, η οποία περιλαμβάνει πολλούς τύπους καναλιών κατιόντων, τασεο-εξαρτώμενα ή εξαρτώμενα από ενδοκυτταρικούς δεύτερους διαβιβαστές, με κοινό χαρακτηριστικό τον P-βρόχο ανάμεσα στην S5 και S6 περιοχή.

Η δομή των S5-S6 καναλιών μπορεί να διαφέρει:

α. Μπορεί να αποτελούνται από 4 υπομονάδες με 6 διαμεμβρανικές α-έλικες (S1-S6), όπως τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ και τα προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια υποδοχείς κυκλικών νουκλεοτιδίων (cAMP, cGMP) και τριφωσφορικής ινσιτόλης (IP_3).

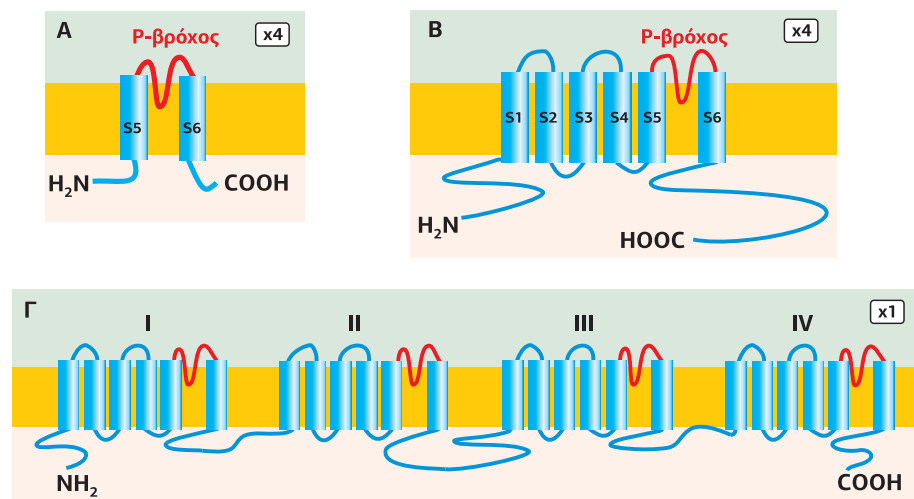
β. Μπορεί να είναι μονομερή, δηλαδή να αποτελούνται από μία υπομονάδα με τέσσερα επαναλαμβανόμενα μοτίβα 6 διαμεμβρανικών α-ελίκων, όπως τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και Ca^{2+} .

γ. Μπορεί να έχουν μια απλούστερη δομή, όμοια με των προκαρυωτικών καναλιών K^+ KcsA, δηλαδή να αποτελούνται από 4 υπομονάδες με δύο διαμεμβρανικές α-έλικες η καθεμία, παρόμοιες με τις S5 και S6, και έναν P-βρόχο ανάμεσά τους, που συναντάμε στα ευκαρυωτικά κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ (inwardly rectifying Kir channel).

Παρά τις διαφορές στη δομή, όλα τα κανάλια αυτής της οικογένειας έχουν ένα κοινό δομικό χαρακτηριστικό, τις διαμεμβρανικές S5 και S6 α-έλικες και τον κοντό P- (permeability: διαπερατότητα) βρόχο, που σχηματίζεται ανάμεσά τους (**Εικόνα 4.12**). Ο βρόχος αυτός βυθίζεται αλλά δεν διαπερνά τη μεμβράνη και λειτουργεί ως φίλτρο εξειδίκευσης και γι'αυτό τα κανάλια που ανήκουν σε αυτήν την οικογένεια παρουσιάζουν υψηλή εξειδίκευση ως προς τα κατιόντα που διέρχονται διαμέσου αυτών. Ο P-βρόχος περιέχει αμινοξέα με καρβονυλικές ομάδες, οι οποίες με καταπόληση ενέργειας αλληλεπιδρούν με τα μόρια H₂O των ενυδατωμένων κατιόντων, με αποτέλεσμα τα κατιόντα να αφυδατώνονται και να μπορούν να διαπεράσουν το στόμιο του πόρου του καναλιού. Τα κατιόντα που είναι ογκωδέστερα απαιτούν λιγότερη ενέργεια για την αφυδάτωσή τους (π.χ. το ιόν K⁺ ως ογκωδέστερο απαιτεί 80 Kcal/mole, σε σχέση με το μικρότερο ιόν Na⁺ που απαιτεί 98 Kcal/mole), και κατά συνέπεια περνούν ευκολότερα.

Εικόνα 4.12

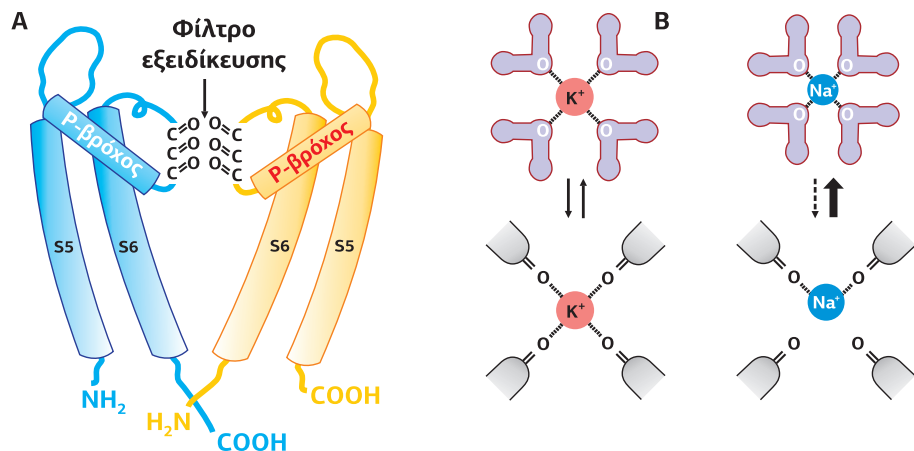
Τα κανάλια που ανήκουν στην υπεροικογένεια καναλιών S5-S6 μπορεί να έχουν απλή δομή από 4 υπομονάδες με δύο διαμεμβρανικές έλικες η καθεμία (A), πιο πολύπλοκη δομή από 4 υπομονάδες με 6 διαμεμβρανικές έλικες η καθεμία (B) ή ακόμη να αποτελούνται από μία υπομονάδα με 4 επαναλαμβανόμενα μοτίβα 6 διαμεμβρανικών ελίκων το καθένα (Γ). Και στις τρεις περιπτώσεις το κοινό στοιχείο που χαρακτηρίζει αυτού του τύπου τα κανάλια είναι ο P-βρόχος ή φίλτρο εξειδίκευσης ανάμεσα στις S5 και S6 διαμεμβρανικές α-έλικες. [111]



Εικόνα 4.13

A. Διάγραμμα δύο υπομονάδων των καναλιών S5-S6, όπου απεικονίζεται ο τρόπος με τον οποίο σχηματίζεται το φίλτρο εξειδίκευσης. Τα άτομα οξυγόνου του καρβονυλίου (C=O) των αμινοξέων του P-βρόχου κοιτούν προς τον πόρο, δημιουργώντας περιοχές πρόσδεσης για το H₂O. B. Οι καρβονυλικές ομάδες των αμινοξέων των τεσσάρων P-βρόχων με απαίτηση ενέργειας συναγωνίζονται με τα μόρια H₂O των ενυδατωμένων κατιόντων (Na⁺, K⁺). Ως αποτέλεσμα, τα ιόντα αφυδατώνονται και μπορούν να διαπεράσουν το στόμιο του καναλιού. Το ιόν K⁺, ως ογκωδέστερο, απαιτεί λιγότερη ενέργεια για την αφυδάτωσή του από ότι το μικρότερο ιόν Na⁺. Αυτή η διαφορά μαζί με τη διαφορά στη διάμετρο του πόρου μπορεί να εξηγήσει την υψηλή εξειδίκευση των καναλιών S5-S6.

Η διαφορά στην απαίτηση ενέργειας μαζί με τη διαφορά στη διάμετρο του πόρου εξηγεί την υψηλή εξειδίκευση των καναλιών S5-S6. Για παράδειγμα, τα κανάλια K⁺ δεν μπορούν να αφυδατώσουν επαρκώς τα ιόντα Na⁺, ενώ τα κανάλια Na⁺, αν και είναι ικανά να αφυδατώσουν και τους δυο τύπους ιόντων, είναι πολύ στενά για να επιτρέψουν το πέρασμα των ιόντων K⁺ (**Εικόνα 4.13**).



2.2

Η οικογένεια των προσδετο-εξαρτώμενων από εξωκυτταρικό νευροδιαβιβαστή καναλιών ιόντων ή καναλιών υποδοχέων

Τα μέλη της υπεροικογένειας των προσδετο-εξαρτώμενων από εξωτερικό νευροδιαβιβαστή καναλιών, κατατάσσονται σύμφωνα με τη δομή τους σε τρεις κατηγορίες (**Εικόνα 4.14**):

α. Στα κανάλια που αποτελούνται από τρεις υπομονάδες, με δύο διαμεμβρανικές έλικες η καθεμία, οι οποίες συνδέονται με έναν μεγάλο εξωκυτταρικό βρόχο, με χαρακτηριστικό μέλος τον πουρινεργικό ATP υποδοχέα P2X.

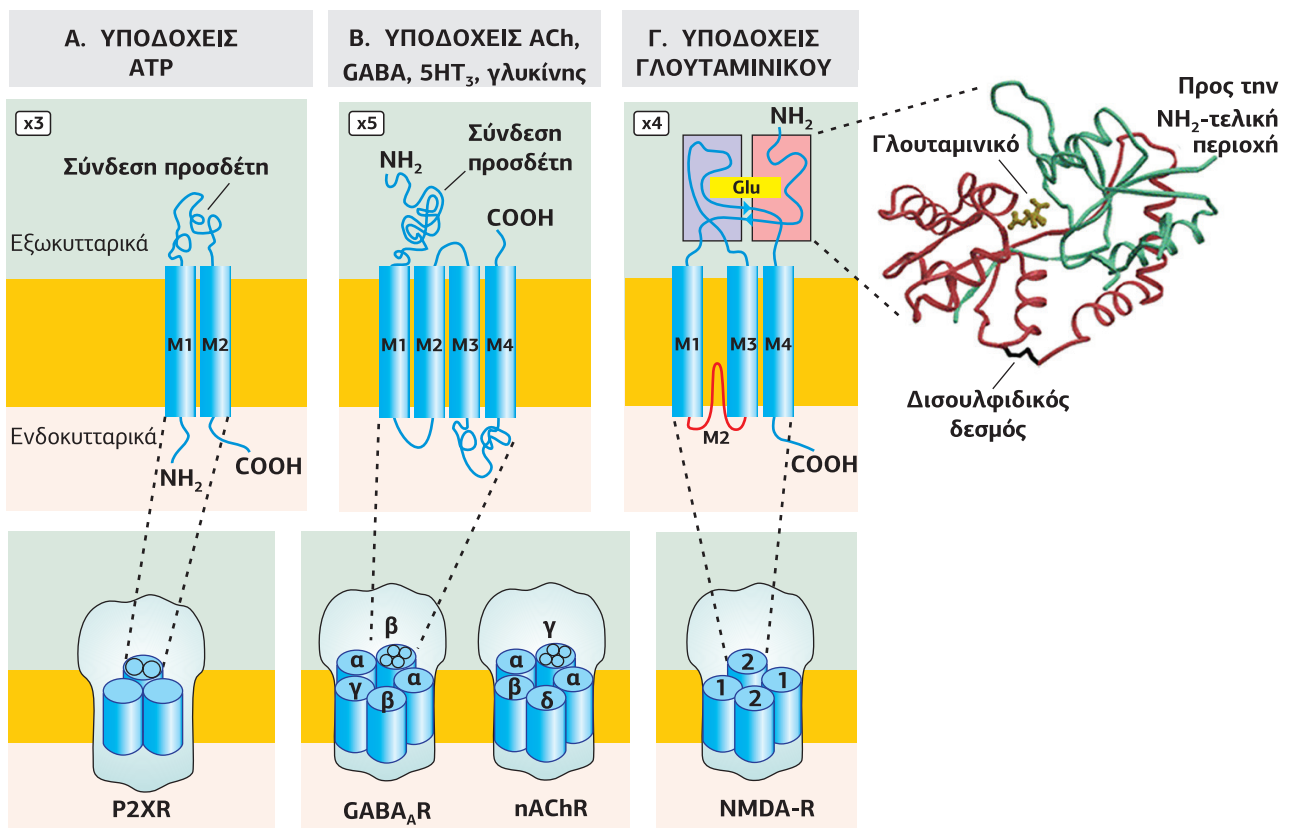
β. Στα κανάλια που αποτελούνται από πέντε υπομονάδες με τέσσερις διαμεμβρανικές έλικες η καθεμία, με έναν χαρακτηριστικό βρόχο κυστεΐνης (Cys-loop) στο NH₂-τελικό τους άκρο, με τον νικοτινικό υποδοχέα να αποτελεί το πρωτότυπο.

γ. Στους ιοντοτροπικούς υποδοχείς του γλουταμινικού. Η σύντηξη ενός καναλιού S5-S6 με μια προκαρυωτική πρωτεΐνη με θέση σύνδεσης για το γλουταμινικό δημιούργησε έναν καινούργιο τύπο καναλιού, τον ιοντοτροπικό υποδοχέα κανάλι, ένα μη εξειδικευμένο κανάλι κατιόντων που παίζει κεντρικό ρόλο στη δημιουργία της μνήμης στον εγκέφαλο. Αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες με τρεις διαμεμβρανικές έλικες η καθεμία και έναν χαρακτηριστικό M2 βρόχο ανάμεσα στην M1 και M3 διαμεμβρανική περιοχή.

Και στις τρεις περιπτώσεις το κοινό στοιχείο που χαρακτηρίζει αυτού του τύπου τους υποδοχείς είναι ότι το άνοιγμα της πύλης εξαρτάται από την πρόσδεση του εξωκυτταρικού νευροδιαβιβαστή (ATP, ακετυλοχολίνη, σεροτονίνη, GABA, γλουταμινικό), ενώ τα κανάλια μπορεί να είναι κατιόντων ή ανιόντων (GABA_A και GABA_C υποδοχείς κανάλια ιόντων Cl⁻).

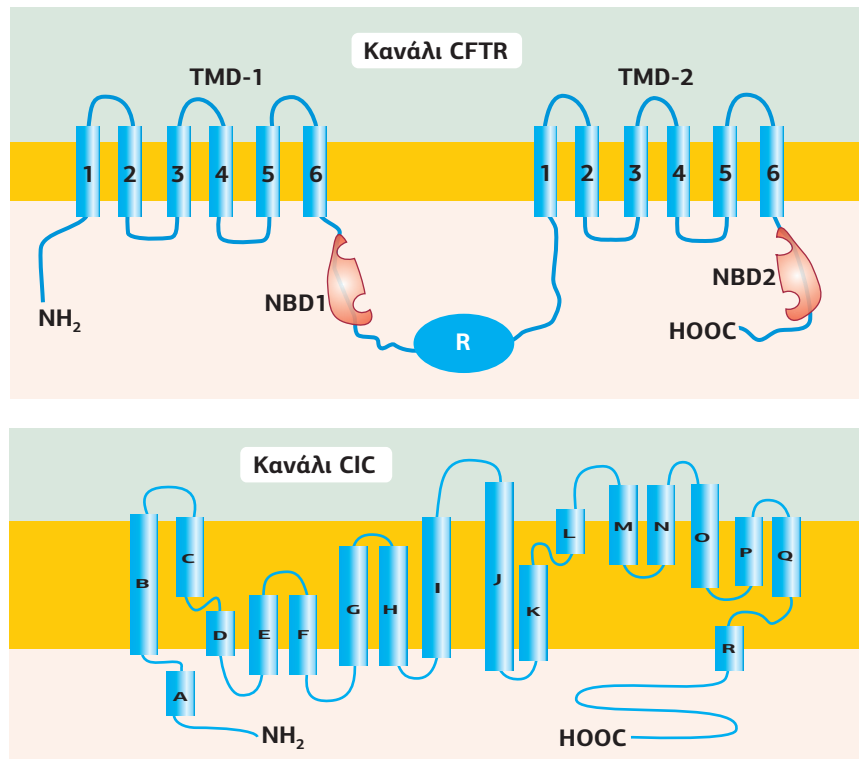
Εικόνα 4.14

Τα κανάλια που ανήκουν στην υπεροικογένεια προσδετο-εξαρτώμενων από εξωκυτταρικό νευροδιαβιβαστή καναλιών μπορεί να έχουν απλή δομή, από 3 υπομονάδες με 2 διαμεμβρανικές έλικες η καθεμία, όπως οι υποδοχείς του ATP (A), πιο πολύπλοκη δομή από 5 υπομονάδες με 4 διαμεμβρανικές έλικες η καθεμία, όπως οι νικοτινικοί υποδοχείς ACh, οι υποδοχείς GABA_A και σεροτονίνης 5HT₃Rs (B) ή ακόμη να αποτελούνται από 4 υπομονάδες με 3 διαμεμβρανικές έλικες η καθεμία και έναν M₂-βρόχο, ανάμεσα στην M1 και M3 α-έλικα, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τους υποδοχείς AMPA, NMDA και καϊνικού (Γ). Και στις τρεις περιπτώσεις το κοινό στοιχείο που χαρακτηρίζει αυτούς τους υποδοχείς είναι ότι το άνοιγμα της πύλης εξαρτάται από την πρόσδεση του νευροδιαβιβαστή στην εξωκυτταρική περιοχή του καναλιού.



2.3 | Η υπεροικογένεια των καναλιών ανιόντων

Η υπεροικογένεια των καναλιών ανιόντων περιλαμβάνει κανάλια που μεταφέρουν κυρίως ιόντα Cl^- . Τα κανάλια Cl^- κατατάσσονται σε τρεις οικογένειες: την οικογένεια CIC (Cl^- Channels), την οικογένεια CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) και την οικογένεια προσδετο-εξαρτώμενων καναλιών υποδοχέων GABA (που θα μελετηθεί με τα προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια). Τα κανάλια Cl^- έχουν πολύπλοκη δομή, καθώς αποτελούνται από δύο υπομονάδες με 18 α-έλικες η καθεμία, σχηματίζοντας δύο πόρους (κανάλια CIC) ή είναι μονομερή με δύο ομάδες των 6 διαμεμβρανικών περιοχών (το κανάλι CFTR, το οποίο ανήκει στη μεγάλη οικογένεια των μεταφορέων ABC) (Εικόνα 4.15).



Εικόνα 4.15

Τα κανάλια ανιόντων είναι κυρίως κανάλια Cl^- . Διακρίνονται οι δύο οικογένειες: τα κανάλια CFTR, μονομερή με 12 διαμεμβρανικές έλικες, διευθετημένες σε δύο ομάδες των έξι (TMD-1, 2), δύο περιοχές σύνδεσης του ATP (NBD-1/2, Nucleotide Binding Domain) και μια ρυθμιστική περιοχή (R), και τα κανάλια CIC, διμερή με 18 α-έλικες η κάθε υπομονάδα. [69]

Στη συνέχεια, θα μελετήσουμε τα κανάλια ιόντων που ανήκουν στις τρεις προηγούμενες υπεροικογένειες, κανάλια S5-S6, κανάλια υποδοχείς και κανάλια ανιόντων, περιγράφοντας τη δομή και τον ρόλο τους στη μεταγωγή σήματος και γενικότερα στη λειτουργία των κυττάρων.

3. Κανάλια κατιόντων της υπεροικογένειας S5-S6: Πρότυπες δομές και ο ρόλος τους στη σηματοδότηση

Μπορεί να γίνει διάκριση σε δύο πρότυπα καναλιών της υπεροικογένειας S5-S6, τα οποία διατηρούνται από τους προκαρυωτικούς οργανισμούς έως τον άνθρωπο και διαφέρουν ως προς την αρχιτεκτονική των υπομονάδων τους (Εικόνα 4.16).

Πρότυπο 1: Ένα τυπικό κανάλι κατιόντων που ανήκει στο πρότυπο 1 αποτελείται από τουλάχιστον τέσσερις κύριες α-υπομονάδες, οι οποίες σε ορισμένες περιπτώσεις συνδέονται με ρυθμιστικές υπομονάδες (β , γ , δ κ.λπ.). Κάθε α-υπομονάδα περιέχει 6 διαμεμβρανικές α-έλικες και έναν P-βρόχο ανάμεσα στην S5 και την S6 α-έλικα, ο οποίος βυθίζεται μέσα στη μεμβράνη και παίζει τον ρόλο του φίλτρου εξειδίκευσης που καθορίζει την εξειδίκευση του καναλιού ως προς τα ιόντα που δι-

έρχονται. Οι διαμεμβρανικές περιοχές δημιουργούν μια κεντρική κοιλότητα γεμάτη H_2O και μια πύλη, η οποία ανοίγει ή κλείνει με έναν αντιστρεπτό τρόπο μετά από πρόσληψη του σήματος. Αυτή η αρχιτεκτονική είναι χαρακτηριστική για τα προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά τασσο-εξαρτώμενα κανάλια κατιόντων (voltage-operated cation channels), τα κανάλια CNG (Cyclic Nucleotide-Gated) που ελέγχονται από κυκλικά νουκλεοτίδια (cAMP, cGMP), τα κανάλια υποδοχής τριφωσφορικής ινοσιτόλης ($InsP_3R$) και ρυανοδίνης (RyR), που βρίσκονται στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού/σαρκοπλασματικού δικτύου, και τα κανάλια TRP παροδικού δυναμικού, που ελέγχονται από υποδοχείς (Transient Receptor Potential).

Πρότυπο 2: Ένα τυπικό κανάλι κατιόντων που ανήκει στο πρότυπο 2 αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες. Κάθε υπομονάδα αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές περιοχές, S5 και S6, και έναν P-βρόχο ανάμεσά τους. Αυτή η απλή και πιθανώς πιο αρχέγονη αρχιτεκτονική είναι χαρακτηριστική για τα επιθηλιακά κανάλια Na^+ (ENaC) και για τα κανάλια επανορθωτικού ρεύματος K^+ (Kir). Στο πρότυπο αυτό ανήκουν, επίσης, και τα κανάλια K^+ με δύο P-βρόχους (K2P), που αποτελούνται από δύο ομοιοπολικά συνδεδεμένες υπομονάδες με τη χαρακτηριστική δομή των δύο διαμεμβρανικών περιοχών, S5 και S6, και έναν P-βρόχο ανάμεσά τους.

Στο πρότυπο 1 ανήκουν τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια, τα οποία αποτελούν την πλειοψηφία των καναλιών στα ανθρώπινα κύτταρα και ανοίγουν έπειτα από εκπόλωση της μεμβράνης. Από τους προκαρυωτικούς οργανισμούς έως τον άνθρωπο όλα τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια ιόντων λειτουργούν σύμφωνα με την ίδια αρχή που βασίζεται στην κοινή αρχιτεκτονική τους. Στα πιο αρχέγονα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , οι τέσσερις υπομονάδες είναι διαχωρισμένες, ενώ στα εξελικτικά πιο σύγχρονα κανάλια Na^+ και Ca^{2+} οι τέσσερις υπομονάδες βρίσκονται ως υπο-περιοχές σε μια κοινή πολυπεπτιδική αλυσίδα (**Εικόνα 4.17**).

Τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια είναι υπερταχύτατοι διακόπτες και γι' αυτό παίζουν κύριο ρόλο στη γρήγορη μεταφορά του σήματος στο νευρικό σύστημα. Για την ταχύτατη αλλαγή διαμόρφωσης κύριο ρόλο παίζει ένα δομικό στοιχείο, το οποίο έπειτα από εκπόλωση της μεμβράνης αλλάζει θέση ή διαμόρφωση με τέτοιο τρόπο, ώστε η πύλη του καναλιού ανοίγει. Η δομή αυτή είναι η διαμεμβρανική περιοχή S4, η οποία φέρει ισχυρά θετικό φορτίο, καθώς περιέχει ένα επαναλαμβανόμενο μοτίβο ενός θετικά φορτισμένου αμινοξέος (κυρίως αργινίνης, R) και δύο υδρόφοβων αμινοξέων και, επίσης, είναι αρκετά λιπόφιλη για να μετακινείται μέσα στη λιπιδική διπλοστιβάδα της μεμβράνης (**Εικόνα 4.18**). Η S4 διαμεμβρανική α-έλικα είναι ο **αισθητήρας τάσης**.

Ο ακριβής μηχανισμός της τασσο-εξαρτώμενης ρύθμισης της πύλης παρέμεινε μυστήριο για πάνω από μισό αιώνα. Το 2005 ο μηχανισμός διαλευκάνθηκε με τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα από το τασσο-εξαρτώμενο κανάλι K^+ (KvAP) του αρχαιοβακτηρίου *Aeropyrum perni*. Αποδείχθηκε ότι η έλικα S4 μετά την εκπόλωση δεν μετακινείται κάθετα, αλλά σχηματίζει με ένα τμήμα της έλικας S3, το S3b, ένα είδος φουρκέτας, το οποίο βρίσκεται στη βάση του καναλιού και μετακινείται όπως ένα

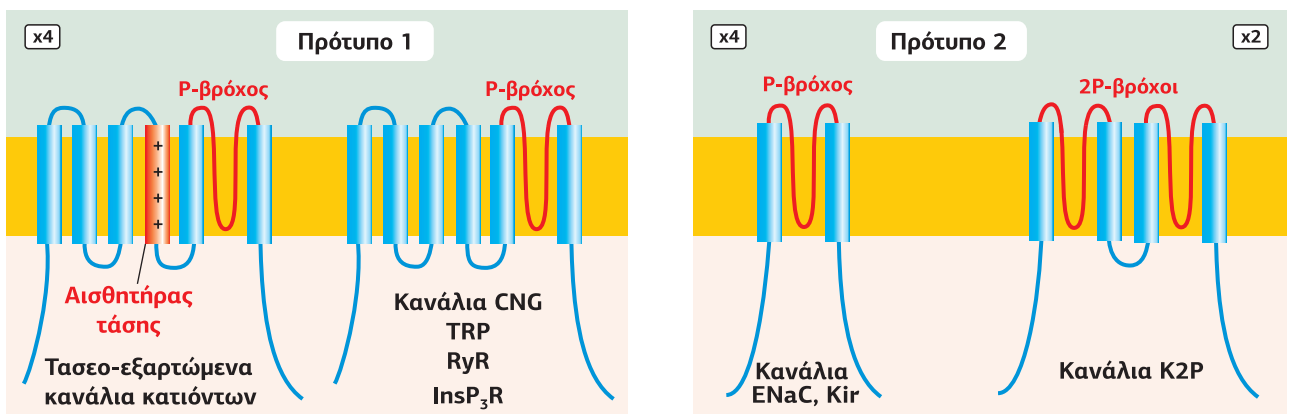
Εικόνα 4.16

Πρότυπα καναλιών κατιόντων της οικογένειας S5-S6.

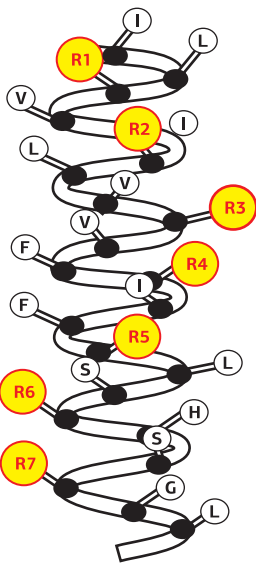
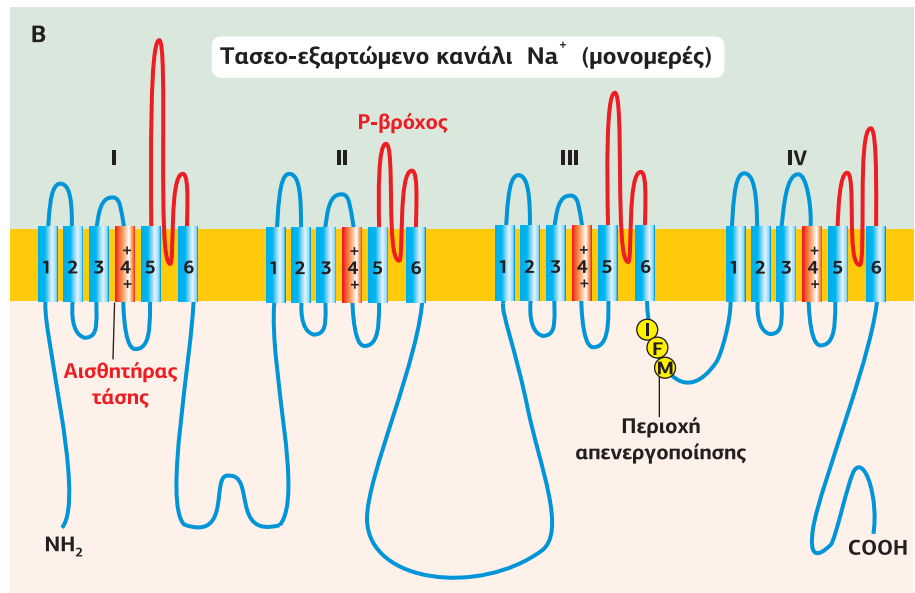
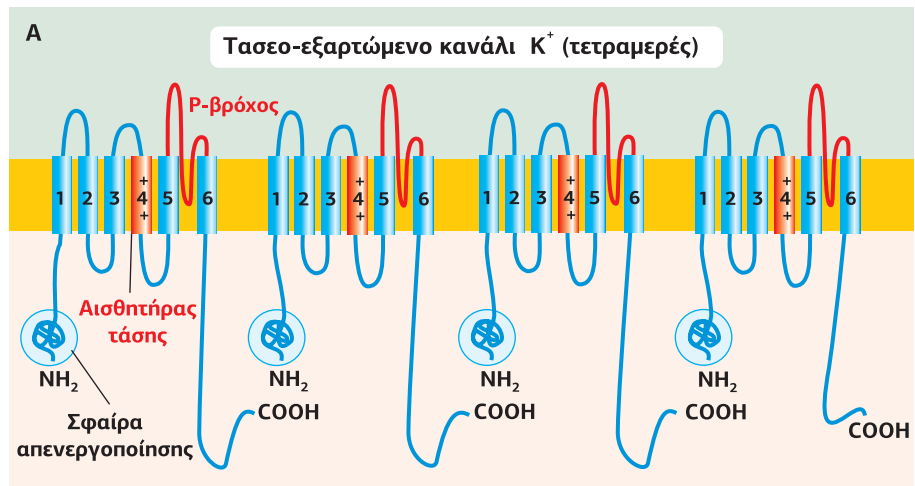
Τα κανάλια Na^+ , K^+ και Ca^{2+} έχουν δύο πρότυπα, τα οποία χαρακτηρίζονται από τη δομή των υπομονάδων τους.

Πρότυπο 1: Κάθε υπομονάδα αποτελείται από 6 διαμεμβρανικές περιοχές και έναν P-βρόχο. Αυτή η αρχιτεκτονική είναι χαρακτηριστική για τα ευκαρυωτικά τασσο-εξαρτώμενα κανάλια κατιόντων, τα CNG (Cyclic Nucleotide-Gated), τα κανάλια TRP (Transient Receptor Potential) παροδικού ρεύματος που ελέγχονται από υποδοχείς, και τα κανάλια υποδοχής ρυανοδίνης και IP_3 του ΕΔ/ΣΔ δικτύου.

Πρότυπο 2: Κάθε υπομονάδα αποτελείται μόνο από δύο διαμεμβρανικές περιοχές και έναν P-βρόχο ανάμεσά τους. Αυτή η απλή αρχιτεκτονική είναι χαρακτηριστική για τα επιθηλιακά κανάλια Na^+ (ENaC), για τα κανάλια επανορθωτικού ρεύματος K^+ (Kir) και τα κανάλια K^+ με δύο P-βρόχους (K2P). [67]



Εικόνα 4.17
Δομή τασο-εξαρτώμενων
καναλιών κατιόντων. Στα
 τασο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ οι 4
 υπομονάδες είναι διαχωρισμένες
 (A), ενώ στα τασο-εξαρτώμενα
 κανάλια Na^+ και Ca^{2+} οι 4
 υπομονάδες βρίσκονται ως μοτίβα
 σε μια πολυπεπτιδική αλυσίδα (B).
 [64]



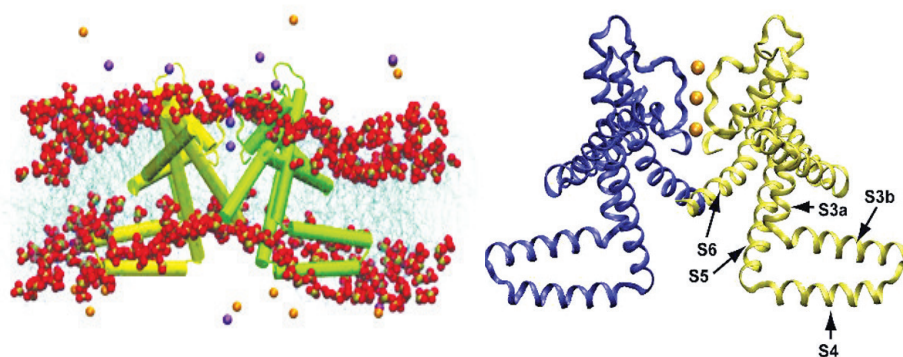
Εικόνα 4.18
Δομή της έλικας S4,
αισθητήρας τάσης των τασο-
εξαρτώμενων καναλιών
κατιόντων. Το S4 τμήμα του
 τασο-εξαρτώμενου καναλιού
 ιόντων K^+ φαίνεται σε ελικοειδή
 διαμόρφωση και οι κύκλοι
 αντιπροσωπεύουν τα αμινοξέα
 της α-έλικας. Η αλληλουχία του
 ενός βασικού και δύο υδρόφοβων
 αμινοξέων είναι χαρακτηριστική
 για την S4. Το βασικό αμινοξύ
 αργινίνη, R, αριθμείται από το
 NH_2 -τελικό προς το $COOH$ -τελικό
 άκρο της πρωτεΐνης (R1- R7).

κουπί. Έπειτα από εκπόλωση της μεμβράνης το “κουπί” μετακινείται προς τα επάνω, προς στο εσωτερικό της μεμβράνης, ανοίγοντας την πύλη (Εικόνα 4.19).

Τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια κατιόντων αλληλεπιδρούν με μια μεγάλη ποικιλία σηματοδοτικών μορίων, που ρυθμίζουν την αποτελεσματικότητά τους σε δεδομένες φυσιολογικές συνθήκες. Για παράδειγμα, οι δραστηριότητές τους βρίσκονται κάτω από λεπτό έλεγχο μέσω φωσφορυλίωσης. Γι’ αυτόν τον λόγο στις κυτταροπλασματικές περιοχές των α-υπομονάδων υπάρχουν πολλές θέσεις φωσφορυλίωσης (βλ. Εικόνα 4.21 και 4.33).

Σε αντίθεση με τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια, τα υπόλοιπα κανάλια του πρότυπου 1 ενεργοποιούνται από ενδοκυτταρικούς προσδέτες (CNG, $InsP_3R$, RyR) ή έμμεσα από υποδοχείς (TRP) και όχι από το δυναμικό. Τα κανάλια αυτά δεν εμφανίζουν ευαισθησία στη μεταβολή δυναμικού λόγω του ανεπαρκούς θετικού φορτίου της S4 περιοχής.

Τα κανάλια του πρότυπου 2 δεν περιέχουν τη φουρκέτα S4-S3b ή έναν παρόμοιο αισθητήρα τάσης και χρησιμοποιούν διαφορετικούς μηχανισμούς ρύθμισης από το δυναμικό. Για παράδειγμα, τα κανάλια Kir απαντούν στο δυναμικό, αλλά με έναν αντίστροφο τρόπο. Ανοίγουν έπειτα από υπερπόλωση, ενώ σε κατάσταση εκπόλωσης είναι μπλοκαρισμένα, “βουλωμένα”, από θετικά φορτισμένες πολυαμίνες και ιόντα Mg^{2+} , ένας μηχανισμός που διαφέρει πλήρως από αυτόν των τασο-

**Εικόνα 4.19**

Μηχανισμός ανοίγματος της πύλης των τασο-εξαρτώμενων καναλιών κατιόντων. Το μοριακό μοντέλο προέκυψε από τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα του τασο-εξαρτώμενου καναλιού K^+ (KvAP) του αρχαιοβακτηρίου *Aeropyrum pernix*. Η έλικα S4 σχηματίζει με ένα τμήμα της έλικας S3, το S3b, ένα είδος φουρκέτας, το οποίο βρίσκεται στη βάση του καναλιού και μετακινείται έπειτα από εκπόλωση της μεμβράνης, προς τα πάνω, όπως ένα κουπί, προκαλώντας το άνοιγμα της πύλης. [95] [67]



εξαρτώμενων καναλιών. Άλλα κανάλια του πρότυπου 2 είναι είτε μόνιμα ανοιχτά (τα 2-P-βρόχων K2P), είτε ενεργοποιούνται από ενδοκυτταρικούς προσδέτες (GIRK και K_{ATP}).

Για τη δουλειά τους πάνω στη δομή και τη λειτουργία των καναλιών ιόντων ο Roderick MacKinnon και ο Peter Agre πήραν το Nobel Χημείας 2003 (Εικόνα 4.20).



Peter Agre (1949 -)



Roderick MacKinnon (1956 -)

Συνοψίζοντας: Τα κανάλια κατιόντων της υπεροικογένειας S5-S6 αποτελούνται από τουλάχιστον 4 α-υπομονάδες, οι οποίες σχηματίζουν έναν κεντρικό πόρο. Δύο βασικά είδη αρχιτεκτονικής διακρίνονται για κάθε υπομονάδα. Οι απλούστερες α-υπομονάδες αποτελούνται από δύο διαμεμβρανικές έλικες (S5-S6) που καλύπτουν τον πόρο και έναν P-βρόχο που σχηματίζει το φίλτρο εξειδίκευσης. Οι α-υπομονάδες των πιο εξελιγμένων τασο-εξαρτώμενων καναλιών περιέχουν 6 διαμεμβρανικές έλικες (S1-S6). Μια δομή φουρκέτας, η οποία σχηματίζεται από τη θετικά φορτισμένη S4 έλικα και τμήμα της S3, δρα ως αισθητήρας τάσης και καθώς μετακινείται με κίνηση κουπιού, ανοίγει ή κλείνει τον πόρο του καναλιού ανάλογα με το δυναμικό της μεμβράνης. Κανάλια με ανεπαρκές θετικό φορτίο στην S4 έλικα δεν ελέγχονται από το δυναμικό, αλλά από ενδοκυτταρικούς προσδέτες ή υποδοχείς.

Εικόνα 4.20

Ο Roderick MacKinnon και ο Peter Agre πήραν το Nobel Χημείας 2003 για τις εργασίες τους πάνω στα κανάλια. Οι δύο Αμερικανοί εξήγησαν πώς το H_2O και τα ιόντα μεταφέρονται μέσα και έξω από τα κύτταρα. Ο Peter Agre, ο οποίος εργαζόταν στο Johns Hopkins University, και ο Roderick MacKinnon, στο Howard Hughes Medical Institute του Rockefeller University, πήραν το βραβείο Nobel γιατί ανακάλυψαν "a fantastic family of molecular machines: channels, gates and valves, all of which are needed for the cell to function". Ο Agre ανακάλυψε τις υδατοπορίνες, ενώ ο MacKinnon τη δομή και τη λειτουργία των τασο-εξαρτώμενων καναλιών Na^+ και K^+ .

3.1

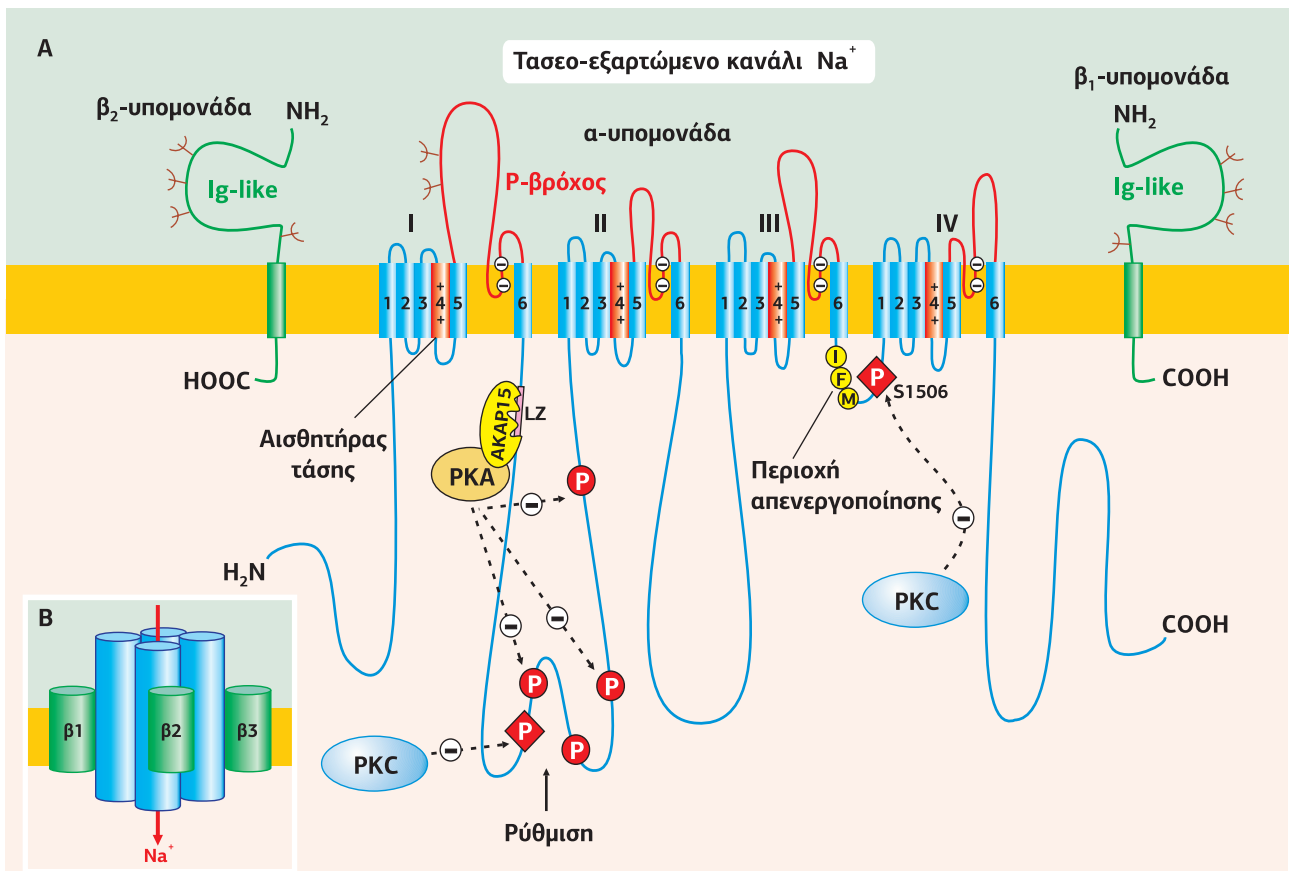
Τασεο-εξαρτώμενα κανάλια Na⁺: υπεύθυνα για την ανοδική φάση του δυναμικού δράσης

Εικόνα 4.21

A. Δομή της κύριας α-υπομονάδας ενός τασεο-εξαρτώμενου καναλιού ιόντων Na⁺, καθώς και των υπομονάδων β₁ και β₂. Η α-υπομονάδα είναι μονομερής διαμεμβρανική πρωτεΐνη που αποτελείται από 4 όμοιες περιοχές. Οι β₁ και β₂ ρυθμιστικές υπομονάδες είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που διαπερνούν μία φορά τη μεμβράνη και η NH₂-περιοχή τους περιέχει μοτίβα όμοια με τις ανοσοσφαιρίνες. Διακρίνονται, επίσης, οι θέσεις φωσφορύλωσης από την κινάση PKA (συνδεδεμένη με την AKAP στο μοτίβο LZ, Leucine Zipper) και την PKC, οι οποίες οδηγούν σε γρηγορότερη απενεργοποίηση των καναλιών και μείωση του ρεύματος Na⁺. [109] B. Αναπαράσταση στον χώρο της κύριας α- (μπλε) και των συμπληρωματικών β-υπομονάδων (πράσινο) του τασεο-εξαρτώμενου καναλιού Na⁺.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, στα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια Na⁺ οι 4 υπομονάδες των 6 διαμεμβρανικών ελίκων, οι οποίες χαρακτηρίζουν όλα τα κανάλια του πρότυπου 1, αποτελούν υποπεριοχές μιας πρωτεΐνης 260 kDa (**Εικόνα 4.21A**). Η δομή αυτής της πρωτεΐνης, αρκετά σύγχρονη εξελικτικά που συναντάται μόνο σε πολυκύτταρους οργανισμούς, έχει μελετηθεί με λεπτομέρεια. Οι τέσσερις υδρόφοβες S6 διαμεμβρανικές α-έλικες δημιουργούν τον πόρο του καναλιού, οι 4 P-βρόχοι το φίλτρο εξειδίκευσης, ενώ οι S4 αισθητήρες τάσης ελέγχουν το άνοιγμα του καναλιού έπειτα από εκπόλωση. Όπως σε όλα τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια, έτσι και στα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια Na⁺, η κεντρική πρωτεΐνη, που χαρακτηρίζεται ως κύρια α-υπομονάδα, περιβάλλεται από πολλές ρυθμιστικές υπομονάδες. Πιο συγκεκριμένα, στα κανάλια Na⁺ η α-υπομονάδα δημιουργεί ένα ετερομερές σύμπλεγμα με τρεις διαφορετικές β-υπομονάδες, β₁, β₂ και β₃, οι οποίες συνδέονται με την α-υπομονάδα ομοιοπολικά με δεσμούς θείου (η β₂) ή μη ομοιοπολικά (η β₁ και η β₃) (**Εικόνα 4.21B**). Οι β-υπομονάδες επηρεάζουν το άνοιγμα του καναλιού και ρυθμίζουν τα επίπεδα έκφρασής του.

Οι β-υπομονάδες (22-36 kDa) είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που διαπερνούν μία φορά τη μεμβράνη, με μια μεγάλη NH₂-τελική εξωκυτταρική περιοχή, με δομή ομόλογη των μορίων κυτταρικής προσκόλλησης που ανήκουν στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών (immunoglobulin-like superfamily), και ένα κοντό ενδοκυτταρικό COOH-τελικό άκρο (**Εικόνα 4.21A**). Το εξωκυτταρικό Ig-like άκρο λειτουργεί ως θέση προσκόλλησης με πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας ή με γειτονικά κύτταρα (π.χ. νευρογλοιακά), ενώ το ενδοκυττα-



ρικό τους άκρο συνδέεται με πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού, όπως η σπεκτρίνη και η αγκυρίνη. Αυτές οι αλληλεπιδράσεις παίζουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της δραστηριότητας του καναλιού και στην ομαδοποίηση των καναλιών Na^+ στη μεμβράνη των διεγερσιμων κυττάρων. Η μεταφορά των δυναμικών δράσης κατά μήκος της μεμβράνης ή η αναπηδητική τους μετάδοση κατά μήκος του εμμέλου νευράξονα οφείλεται σε αυτήν την ομαδοποίηση. Σε μετάλλαξη μιας Cys του εξωκυτταρικού άκρου της β_1 υπομονάδας οφείλεται η κληρονομική επιληψία.

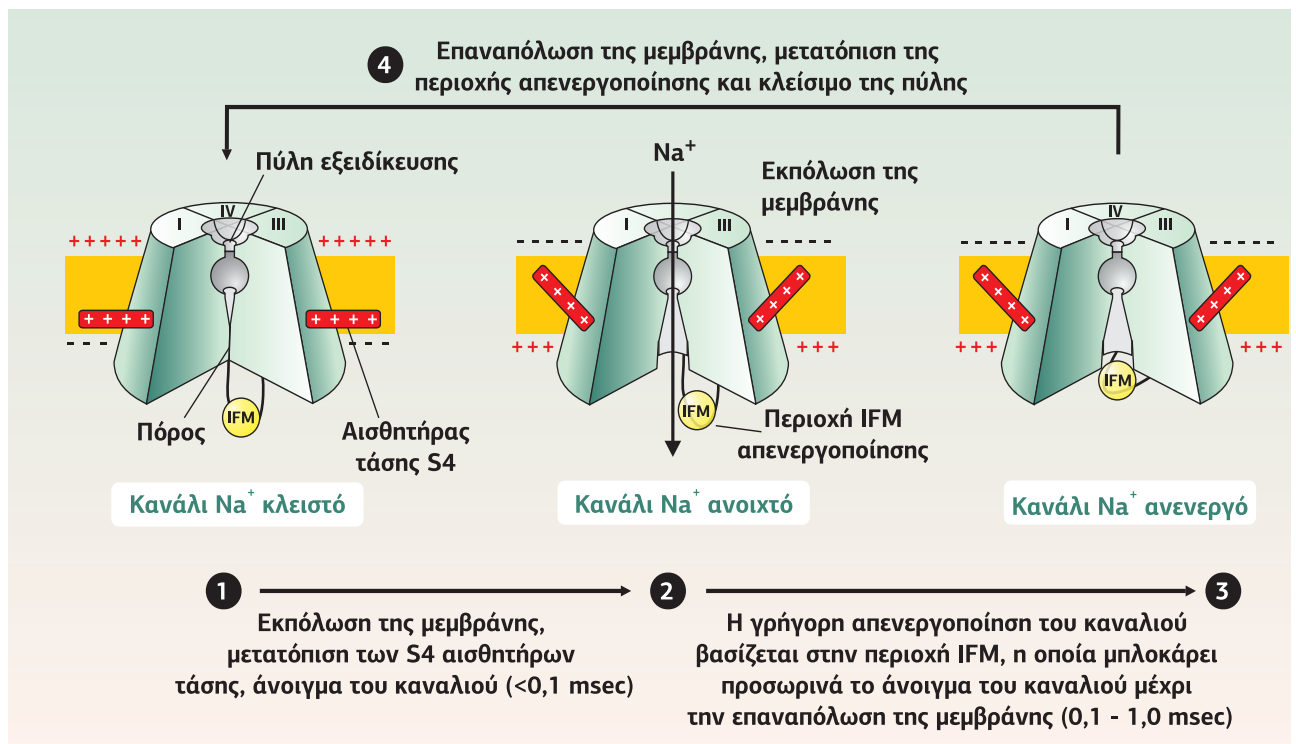
Απενεργοποίηση των τασο-εξαρτώμενων καναλιών Na^+

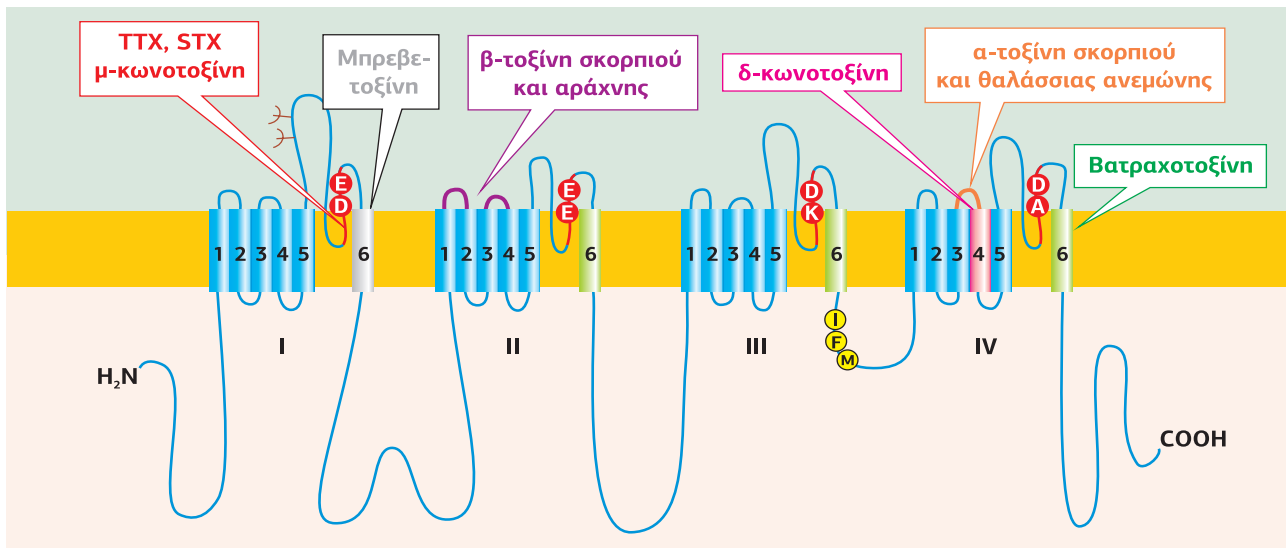
Τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ βρίσκονται στους άξονες των νευρώνων και στα σκελετικά και καρδιακά μυϊκά κύτταρα, όπου είναι υπεύθυνα για την ανοδική φάση του δυναμικού δράσης. Όταν το δυναμικό της μεμβράνης βρίσκεται στην κατάσταση ηρεμίας, τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ βρίσκονται στην κλειστή κατάσταση. Όταν το δυναμικό ξεπεράσει την ουδό ενεργοποίησης, τα κανάλια ανοίγουν και εισέρχονται στο κύτταρο ιόντα Na^+ . Τα κανάλια Na^+ είναι υπεύθυνα για την άμεση και πολύ σύντομη ανοδική φάση του δυναμικού δράσης (έως τα +40 mV), γι' αυτό εξάλλου παραμένουν ανοιχτά για 0,1 msec, και στη συνέχεια αυτο-αναστέλλονται, απενεργοποιούνται. Σε όλη τη διάρκεια της απενεργοποίησης, η οποία μπορεί να διαρκέσει μερικά msec ως αρκετά sec, έως ότου το δυναμικό επιστρέψει στην κατάσταση ηρεμίας, το κανάλι παραμένει απενεργοποιημένο και δεν μπορεί να ανοίξει.

Η γρήγορη απενεργοποίηση των καναλιών Na^+ βασίζεται σε αλλαγές της διαμόρφωσης μιας ευέλικτης δομικής περιοχής της κεντρικής α -υπομονάδας, η οποία μπλοκάρει προσωρινά την είσοδο του πόρου από την ενδοκυτταρική πλευρά. Η **περιοχή απενεργοποίησης** (inactivation domain) των καναλιών Na^+ βρίσκεται στον ενδοκυτταρικό βρόχο ανάμεσα στην III και IV υποπεριοχή και αποτελείται από 3 υδρόφοβα αμινοξέα Ile, Phe και Met (IFM motif) που ευθυγραμμίζονται με την είσοδο του πόρου, απενεργοποιώντας το κανάλι. Μετά τη φάση απενεργοποίησης και την επαναπόλωση της μεμβράνης, το κανάλι επιστρέφει στην κλειστή κατάσταση, έτοιμο να ανοίξει μετά τη νέα αλλαγή στο δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης (Εικόνα 4.22).

Εικόνα 4.22

Τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ βρίσκονται σε τρεις καταστάσεις, **κλειστή** (όταν το δυναμικό είναι στην κατάσταση ηρεμίας, έτοιμα να ανοίξουν), **ανοιχτή** (όταν το δυναμικό ξεπεράσει την ουδό ενεργοποίησης) και **απενεργή** (το κανάλι δεν μπορεί να ανοίξει, καθώς το μοτίβο IFM μπλοκάρει το άνοιγμα του καναλιού, έως ότου η μεμβράνη επαναπολωθεί και το δυναμικό επιστρέψει στο δυναμικό ηρεμίας). [64]





Εικόνα 4.23

Οι νευροτοξίνες ανάλογα με τη θέση σύνδεσής τους στο κανάλι Na^+ επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά τη λειτουργία του. [92]

Εικόνα 4.24

Ένα ψάρι μια ιστορία. Στις αρχές του 1770 ο Βρετανός εξερευνητής Captain James Cook ταξίδευε στο Ν. Ειρηνικό. Στις 7 Σεπτεμβρίου 1774 ο Captain Cook και δύο μέλη του πληρώματος δοκίμασαν ένα εξωτικό ψάρι και τίασαν με το υπόλοιπο τις γάτες του καραβιού. Οι άνδρες έπειτα από λίγες ώρες αισθάνθηκαν άσχημα, παρουσίασαν ζαλάδες, μούδιασμα και λαχάνιασμα, τα δε ζώα πέθαναν. Από την περιγραφή των συμπτωμάτων του Cook και το σχεδιάγραμμα της εικόνας του ψαριού οι ιστορικοί κατέληξαν ότι ο Cook δηλητηριάστηκε από το ruffer fish. Στις αρχές του 1900 Γαπωνέζοι ερευνητές απομόνωσαν από το ruffer fish μια τοξίνη, την τετραδοτοξίνη (TTX). Στη διάρκεια των επόμενων 60 χρόνων ανακαλύφθηκε ότι η TTX εμποδίζει τη δημιουργία δυναμικών δράσης. Μπλοκάροντας τη νευρική σηματοδότηση, η TTX προκαλεί μυϊκή παράλυση, η οποία όταν προσβάλλει την αναπνοή προκαλεί τον θάνατο. Ευτυχώς ο Captain Cook ήταν τυχερός, γιατί μόνο το δοκίμασε.

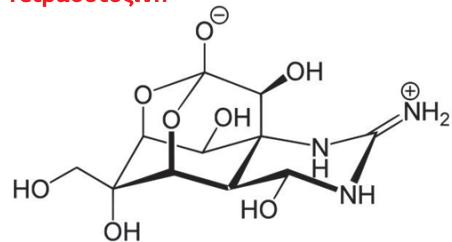
Ρύθμιση της λειτουργίας των τασσο-εξαρτώμενων καναλιών Na^+ από νευροτοξίνες

Στην πύλη των τασσο-εξαρτώμενων καναλιών Na^+ έχουν την ικανότητα να συνδέονται τοπικά αναισθητικά, όπως η λιδοκαΐνη, αλλά και πολλές νευροτοξίνες. Το όνομα “νευροτοξίνη” αποκαλύπτει την ικανότητα φυσικών ουσιών ή πεπτιδίων να αλληλεπιδρούν με τη φυσιολογική λειτουργία του νευρικού συστήματος. Γι’ αυτόν ακριβώς τον λόγο φυτά, ζώα και μικροοργανισμοί ανέπτυξαν νευροτοξικές ουσίες, με σκοπό να ακινητοποιήσουν ή και να σκοτώσουν το θήραμα ή τον θηρευτή τους. Ο βασικός στόχος των νευροτοξινών είναι υποδοχείς κανάλια ιόντων (π.χ. νικωτινικός υποδοχέας) ή τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ , K^+ ή Ca^{2+} , στο ΚΝΣ και στο ΠΝΣ.

Οι νευροτοξίνες ανάλογα με τη θέση σύνδεσής τους στα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά τη λειτουργία τους. Για παράδειγμα, η τετραδοτοξίνη (TTX), η σαξιτοξίνη (STX) και η μ-κωνοτοξίνη συνδέονται στον P-βρόχο και μπλοκάρουν την είσοδο του καναλιού εμποδίζοντας τη ροή των ιόντων. Η βατραχοτοξίνη συνδέεται στις S6 διαμεμβρανικές έλικες εμποδίζοντας την απενεργοποίηση του καναλιού, με συνέπεια την παρατεταμένη δράση του. Οι α-τοξίνες του σκορπιού και της θαλάσσιας ανεμώνης συνδέονται στον εξωκυτταρικό βρόχο, που συνδέει την S3 με την S4 α-έλικα της IV υπομονάδας του καναλιού, και εμποδίζουν την απενεργοποίησή του, ενώ οι β-τοξίνες του σκορπιού και της αράχνης, οι οποίες συνδέονται και αυτές στον εξωκυτταρικό βρόχο που συνδέει την S3 με την S4 α-έλικα, αλλά της II υπομονάδας, μετακινούν την τασσο-εξαρτώμενη ενεργοποίηση του καναλιού σε πιο αρνητικά δυναμικά. Η μπρεβετοξίνη (brevetoxin) συνδέεται στην S6 διαμεμβρανική έλικα της I υπομονάδας αναστέλλοντας την ενεργοποίηση του καναλιού (Εικόνα 4.23). Οι τοξίνες οι οποίες μπλοκάρουν το στόμιο του καναλιού εμποδίζουν τη δημιουργία δυναμικών δράσης και οδηγούν σε παράλυση, ενώ εκείνες που αναστέλλουν την απενεργοποίηση του καναλιού διατηρούν ανοικτό το κανάλι και οδηγούν σε σπασμούς.



Τετραδοτοξίνη

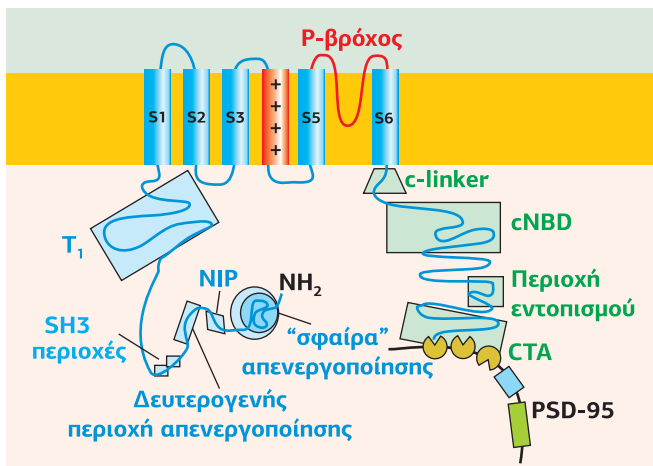


3.2

Τασεο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ : υπεύθυνα για την καθοδική φάση του δυναμικού δράσης

Στα διεγέρσιμα κύτταρα, όπως τα νευρικά και τα μυϊκά, τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ (K_v) είναι υπεύθυνα για την καθοδική φάση του δυναμικού δράσης και τη λήξη του. Τα κανάλια ανοίγουν έπειτα από εκπόλωση της μεμβράνης, εξέρχονται ιόντα K^+ και η μεμβράνη επαναπολώνεται.

Όπως αναφέρθηκε, η δομή των καναλιών K_v είναι όμοια με των καναλιών Na^+ , με τη διαφορά ότι αποτελούνται από 4 ξεχωριστές υπομονάδες αντί για μία πολυπεπτιδική αλυσίδα (βλ. **Εικόνα 4.17**). Αυτό το δομικό χαρακτηριστικό προσδίδει στα K_v μια μεγάλη ποικιλομορφία: στα θηλαστικά οι α-υπομονάδες τους κωδικοποιούνται από περισσότερα από 50 γονίδια, με τη δυνατότητα οι διάφορες ισομορφές να δημιουργούν ομο- ή ετερο-τετραμερή. Οι διαφορετικοί συνδυασμοί εμφανίζουν εξειδικευμένη έκφραση σε συγκεκριμένους ιστούς και απαντούν με διαφορετικό τρόπο στις αλλαγές του δυναμικού της μεμβράνης. Η συμβατότητα στη σύνδεση υπομονάδων για δημιουργία ετερο-τετραμερών οφείλεται στην περιοχή T_1 του ενδοκυτταρικού NH_2 -τελικού άκρου (**Εικόνα 4.25**). Τα τετραμερή έχουν την ικανότητα γρήγορης απενεργοποίησης, έστω και αν μια μόνο υπομονάδα φέρει τη “σφαίρα” απενεργοποίησης (inactivation “ball”) στο NH_2 -τελικό άκρο της. Για παράδειγμα, τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ που συναντώνται στην καρδιά έχουν διαφορετικό ρόλο λόγω της απουσίας ή της παρουσίας της σφαίρας απενεργοποίησης: τα κανάλια $hERG/KCNH2$ ($K_v11.1$), υπεύθυνα για το ρεύμα I_{Kr} , που κωδικοποιούνται από το γονίδιο *hERG* (human Ether-à-go-go-Related Gene), απενεργοποιούνται γρήγορα λόγω της ύπαρξης της σφαίρας και είναι υπεύθυνα για τη λήξη του δυναμικού δράσης στην καρδιά, ενώ τα κανάλια $KCNQ1/K_vLQT1$ ($K_v7.1$), τα οποία δεν έχουν τη σφαίρα απενεργοποίησης είναι υπεύθυνα για την επαναπόλωση της μεμβράνης και την επιστροφή του δυναμικού στην κατάσταση ηρεμίας (**Εικόνα 4.26**).

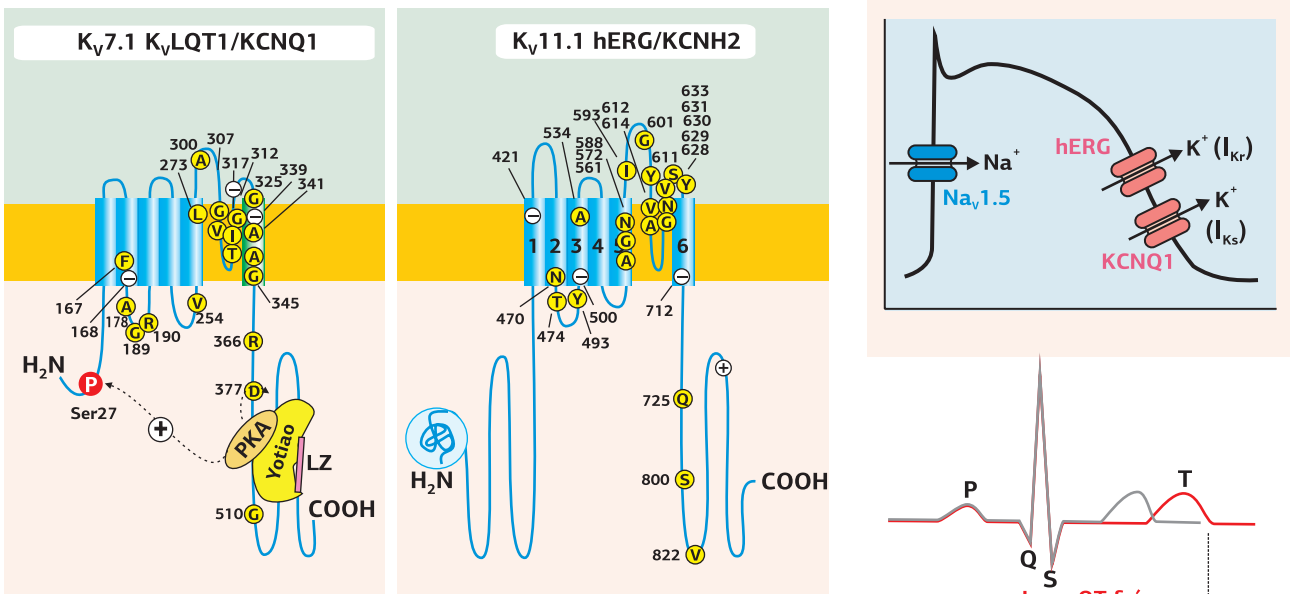
Ρυθμιστικές υπομονάδες των τασεο-εξαρτωμένων καναλιών K^+

Εκτός από την κύρια α-υπομονάδα, όλα τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια περιέχουν και συμπληρωματικές ρυθμιστικές υπομονάδες, οι οποίες τροποποιούν την έκφραση, τις λειτουργικές ιδιότητες και την υποκυτταρική τοποθέτηση του καναλιού.

Τα K_v έχουν 4 ενδοκυτταρικές συμπληρωματικές β-υπομονάδες, οι οποίες αλληλεπιδρούν με το NH_2 -τελικό άκρο κάθε α-υπομονάδας δημιουργώντας ένα συμμετρικό οκταμερές $\alpha_4\beta_4$. Δύο τύποι υπομονάδων έχουν αναγνωριστεί, η β_1 , η οποία συμμετέχει και επιταχύνει την απενεργοποίηση του καναλιού έπειτα από παρατεταμένη ενεργοποίηση, και η β_2 , η οποία αυξάνει τον ρυθμό έκφρασης του τετραμερούς συμπλόκου (**Εικόνα 4.27**).

Εικόνα 4.25

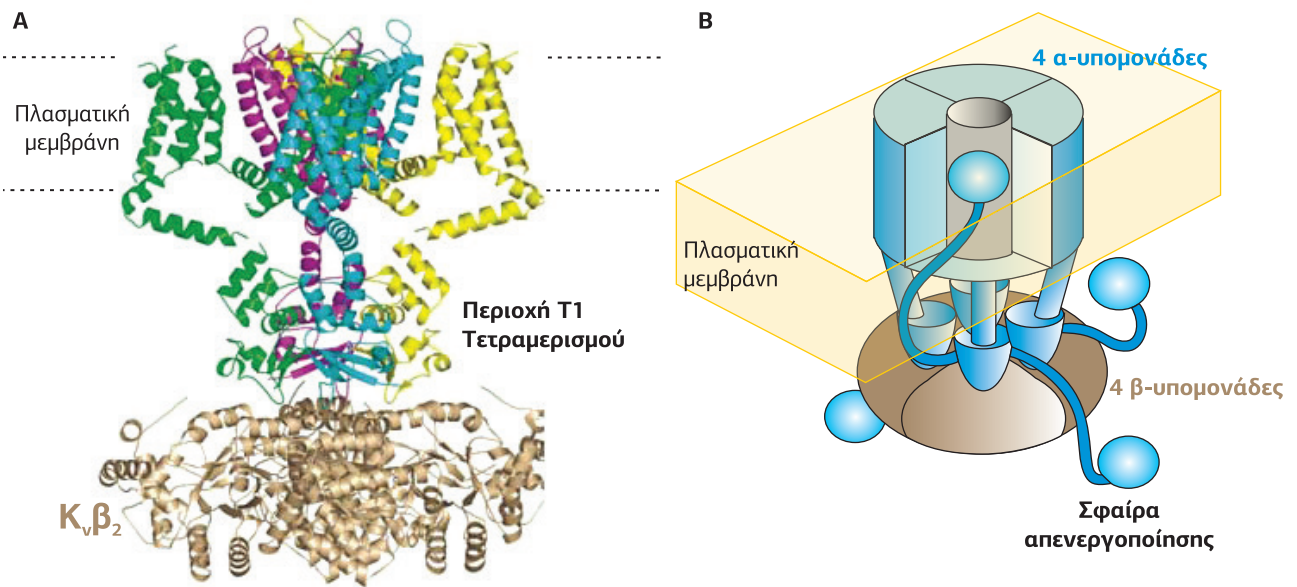
Η δομή μιας υπομονάδας των τασεο-εξαρτωμένων καναλιών K^+ . Στο NH_2 -τελικό άκρο διακρίνεται η περιοχή T_1 υπεύθυνη για τη δημιουργία των ετερο-τετραμερών, η σφαίρα απενεργοποίησης, δύο SH3 περιοχές, οι οποίες βρίσκονται μόνο στα κανάλια $K_v1.5$, μια δευτερογενής περιοχή απενεργοποίησης που συναντάται στα κανάλια $K_v1.4$ και ένας νέος τύπος περιοχής που εμποδίζει την απενεργοποίηση, NIP (N-type Inactivation-Prevention domain), ο οποίος συναντάται μόνο στα κανάλια $K_v1.6$. Στο $COOH$ -άκρο διακρίνονται η περιοχή C-linker και η περιοχή σύνδεσης κυκλικών νουκλεοτιδίων (cNBD), που συναντώνται στα κανάλια K^+ *eag-like* της *Drosophila*, η περιοχή εντοπισμού, η CTA (C-Terminal Activation) των καναλιών $K_v2.1$ και, τέλος, η περιοχή σύνδεσης στην πρωτεΐνη PSD-95 (Post-Synaptic Density Protein), που συναντάται στα κανάλια K_v1 . [6]



Η φωσφορυλίωση της Ser27 του KCNQ1 αυξάνει τη δραστηριότητα του καναλιού μειώνοντας τη διάρκεια των δυναμικών δράσης (Βλ. σελ 410).

Εικόνα 4.26

Η διαφορετική δομή της α-υπομονάδας καθορίζει τον διαφορετικό ρόλο των καναλιών K⁺. Τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια hERG (υπεύθυνα για το ρεύμα I_{Kr}), που συναντώνται στην καρδιά, έχουν μακρύ NH₂-άκρο με σφαίρα απενεργοποίησης. Ως αποτέλεσμα απενεργοποιούνται γρήγορα και είναι υπεύθυνα για τη λήξη του δυναμικού δράσης στην καρδιά. Αντιθέτως, τα κανάλια KvLQT1/KCNQ1, που συναντώνται στο αυτί και στην καρδιά (υπεύθυνα για το ρεύμα I_{Ks}), έχουν κοντό NH₂-άκρο που δεν περιέχει τη σφαίρα απενεργοποίησης και γι' αυτό είναι υπεύθυνα για την επαναπόλωση της μεμβράνης και την επιστροφή του δυναμικού στην κατάσταση ηρεμίας. Με κίτρινο συμβολίζονται οι μεταλλάξεις που είναι υπεύθυνες για την εμφάνιση του συνδρόμου LQT (Long QT syndrome), κατά το οποίο η επαναπόλωση της καρδιάς είναι καθυστερημένη. [58]

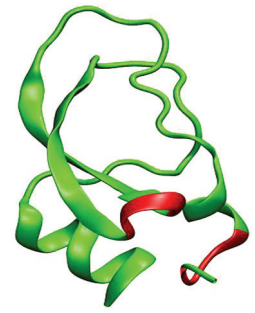


Εικόνα 4.27

Τριδιάστατη δομή του τασηο-εξαρτώμενου καναλιού K⁺ (K_v1.2). Α. Διακρίνονται οι 4 α-υπομονάδες, και με καφέ οι 4 συμπληρωματικές, ενδοκυτταρικές β₂-υπομονάδες. [107] Β. Οι 4 κύριες α-υπομονάδες (με τις σφαίρες απενεργοποίησης) και οι 4 ρυθμιστικές β-υπομονάδες.

Ρύθμιση των τασο-εξαρτώμενων καναλιών K^+

Αρκετά είδη τασο-εξαρτώμενων καναλιών K^+ μπλοκάρονται από τις **δενδροτοξίνες**. Είναι πρωτεΐνες ~7 kDa που αποτελούνται από μια πολυπεπτιδική αλυσίδα 57-60 αμινοξέων και βρίσκονται στο δηλητήριο των φιδιών mamba (*Dendroaspis*). Οι δενδροτοξίνες εμποδίζουν την έξοδο ιόντων K^+ από τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , τα οποία βρίσκονται στους χολινεργικούς κινητήριους νευρώνες που καταλήγουν στους σκελετικούς μυς. Κατά συνέπεια, παρατείνουν τη διάρκεια των δυναμικών δράσης, καθώς όπως είδαμε τα K_v είναι υπεύθυνα για τον τερματισμό του δυναμικού δράσης. Ως αποτέλεσμα φτάνουν παρατεταμένης διάρκειας νευρικοί παλμοί στη νευρομυϊκή σύναψη, απελευθερώνεται περισσότερη ακετυλοχολίνη, οι σκελετικοί μύες δέχονται ισχυρότερη διέγερση, οδηγώντας σε σπασμούς. Άλλοι αναστολείς, που χρησιμοποιούνται κυρίως για ερευνητικούς σκοπούς, είναι τα άλατα του τετρααιθυλαμμώνιου και η 4-αμινοπυριδίνη.



Δενδροτοξίνη

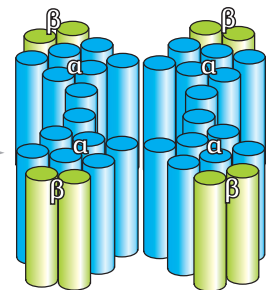
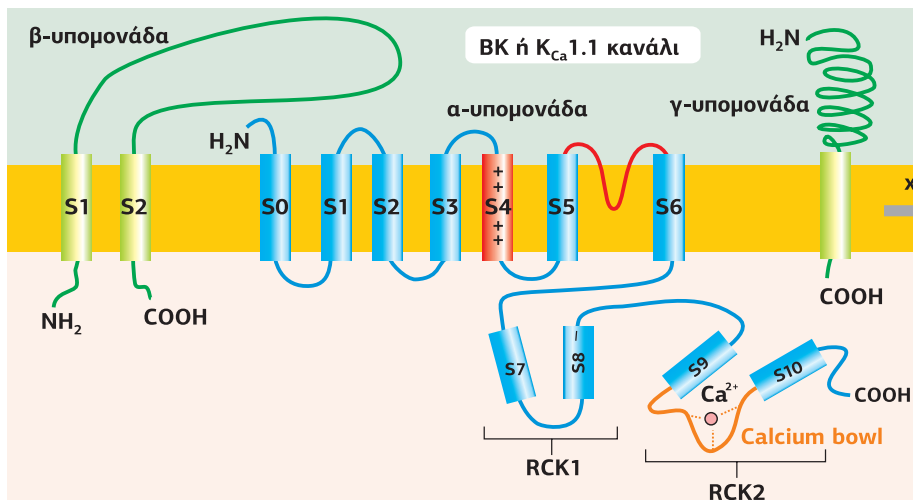
3.3 Τασο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , ευαίσθητα στα ιόντα Ca^{2+}

Σε πολλές φυσιολογικές διαδικασίες, όπως η απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή, η χάλαση των λείων μυϊκών κυττάρων και η ρύθμιση της συχνότητας απελευθέρωσης του νευροδιαβιβαστή από τα ακουστικά τριχοκύτταρα, τασο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , ευαίσθητα ταυτόχρονα στο Ca^{2+} (voltage-gated, calcium-sensitive) (BK, Big Potassium ή $K_{Ca}1.1$), συνδέουν τη διεγερσιμότητα της μεμβράνης με τη σηματοδότηση του Ca^{2+} . Τα κανάλια BK ενεργοποιούνται από το δυναμικό και από συγκεντρώσεις 2-100μM του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} . Αν και είναι ικανά να ανοίξουν απουσία Ca^{2+} , η σύνδεση του Ca^{2+} είναι απαραίτητη για το άνοιγμά τους σε φυσιολογικές συνθήκες.

Τα κανάλια BK έχουν μια τετραμερή δομή. Το κάθε μονομερές συγκροτείται από μια α - και μια β -υπομονάδα. Κάθε α -υπομονάδα αποτελείται από μια διαμεμβρανική α -έλικα S0, η οποία προηγείται των 6 διαμεμβρανικών α -ελίκων S1-S6, καλά συντηρημένων σε όλα τα τασο-εξαρτώμενα κανάλια, έναν διαμεμβρανικό αισθητήρα τάσης (S4), έναν P-βρόχο εξειδίκευσης και, τέλος, μια μεγάλη κυτταροπλασματική COOH-τελική περιοχή (CTD, C-Terminal Domain), που αποτελείται από δύο περιοχές RCK (Regulator of K^+ Conductance), RCK1 και RCK2. Αυτές οι περιοχές περιέχουν δύο υψηλής συγγένειας θέσεις σύνδεσης του Ca^{2+} : η μία στην περιοχή RCK1 στη θέση Asp362/Asp367 και η δεύτερη ονομάζεται "calcium bowl" και βρίσκεται στην RCK2 (Εικόνα 4.28). Οι τέσσερις "calcium bowls" (μία σε κάθε υπομονάδα) σχηματίζουν τον δακτύλιο πύλης "gating ring" του BK. Η CTD περιέχει, επιπλέον, θέσεις σύνδεσης για το Mg^{2+} , το CO και την αίμη, μόρια τα οποία επίσης ρυθμίζουν το άνοιγμα της πύλης του καναλιού.

Εικόνα 4.28

Σχηματική αναπαράσταση της δομής του τασο-εξαρτώμενου και Ca^{2+} -ευαίσθητου καναλιού K^+ , BK. Η β υπομονάδα αποτελείται από 2 διαμεμβρανικές περιοχές (TM1-TM2) και η α -υπομονάδα αποτελείται από 7 διαμεμβρανικές περιοχές (S0-S6), έναν P-βρόχο ανάμεσα στις S5-S6 και ένα μεγάλο COOH-τελικό άκρο (CTD). Το CTD αποτελείται από δύο περιοχές RCK, οι οποίες περιέχουν δύο υψηλής συγγένειας θέσεις σύνδεσης του Ca^{2+} . Δεξιά, διακρίνεται η τριδιάστατη δομή του BK καναλιού, που σχηματίζεται από τον συνδυασμό 4 α - και 4 β -υπομονάδων. Πρόσφατα ανακαλύφθηκε και μια γ -υπομονάδα, της οποίας ο τρόπος αλληλεπίδρασης με το κανάλι είναι ακόμα θέμα διερεύνησης. [47]



Ο φυσιολογικός ρόλος των τασσο-εξαρτώμενων Ca^{2+} -ευαίσθητων καναλιών K^+

Τα κανάλια BK ενεργοποιούνται, ανοίγουν, έπειτα από μεταβολή του δυναμικού της μεμβράνης και αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης των ιόντων Ca^{2+} . Το άνοιγμα των καναλιών οδηγεί σε έξοδο των ιόντων K^+ και υπερπόλωση της μεμβράνης.

Η ύπαρξη των καναλιών BK στο προσυναπτικό άκρο των νευρικών κυττάρων ελέγχει τη διάρκεια της απελευθέρωσης του νευροδιαβιβαστή. Όταν το δυναμικό δράσης φτάσει στο προσυναπτικό άκρο, ανοίγουν τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} , αυξάνεται η ενδοκυτταρική συγκέντρωση του Ca^{2+} και απελευθερώνεται ο νευροδιαβιβαστής. Τα κανάλια BK ανοίγουν λόγω της εκπόλωσης της μεμβράνης και της αύξησης της συγκέντρωσης του Ca^{2+} , εξέρχονται ιόντα K^+ και το δυναμικό της μεμβράνης επανέρχεται στην κατάσταση ηρεμίας. Κατά συνέπεια, τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} κλείνουν και η απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή σταματά.

Τα κανάλια BK εκφράζονται σε μεγάλο αριθμό και στα λεία μυϊκά κύτταρα, όπου ελέγχουν τη διάρκεια διέγερσης των λείων μυϊκών κυττάρων. Καθώς η αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} στα λεία μυϊκά κύτταρα προκαλεί σύσπαση, το άνοιγμα των καναλιών BK, λόγω εκπόλωσης και αύξησης της συγκέντρωσης του Ca^{2+} , οδηγεί σε υπερπόλωση και κατά συνέπεια σε κλείσιμο των τασσο-εξαρτώμενων καναλιών Ca^{2+} , με αποτέλεσμα τη χάλαση των λείων μυϊκών κυττάρων (βλ. **Εικόνα 6.29**).

Η **gabapentin** είναι ένα χημικό ανάλογο του GABA και ενεργοποιεί τα κανάλια Cl^- /υποδοχείς GABA οδηγώντας σε υπερπόλωση τα κύτταρα. Χορηγείται κυρίως κατά τις επιληπτικές κρίσεις, αλλά και για τη θεραπεία διπολικών ασθενειών. Ένας άλλος μηχανισμός, μέσω του οποίου δρα η gabapentin, είναι η αλληλεπίδρασή της με τις $\alpha_2\delta$ υπομονάδες των τασσο-εξαρτώμενων καναλιών Ca^{2+} , που οδηγεί έπειτα από χρόνια χορήγηση σε μείωση του ρεύματος Ca^{2+} .



Δομή της περιοχής γουανυλικής κινάσης (GUK)

Η GK καταλύει την αντίδραση $ATP + GMP \rightarrow ADP + GDP$. Έχει δράση φωσφοτρανσφεράσης καθώς μεταφέρει μια φωσφορική ομάδα στο GMP, συμμετέχοντας στο μεταβολισμό των πουρινών

3.4

Τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+}

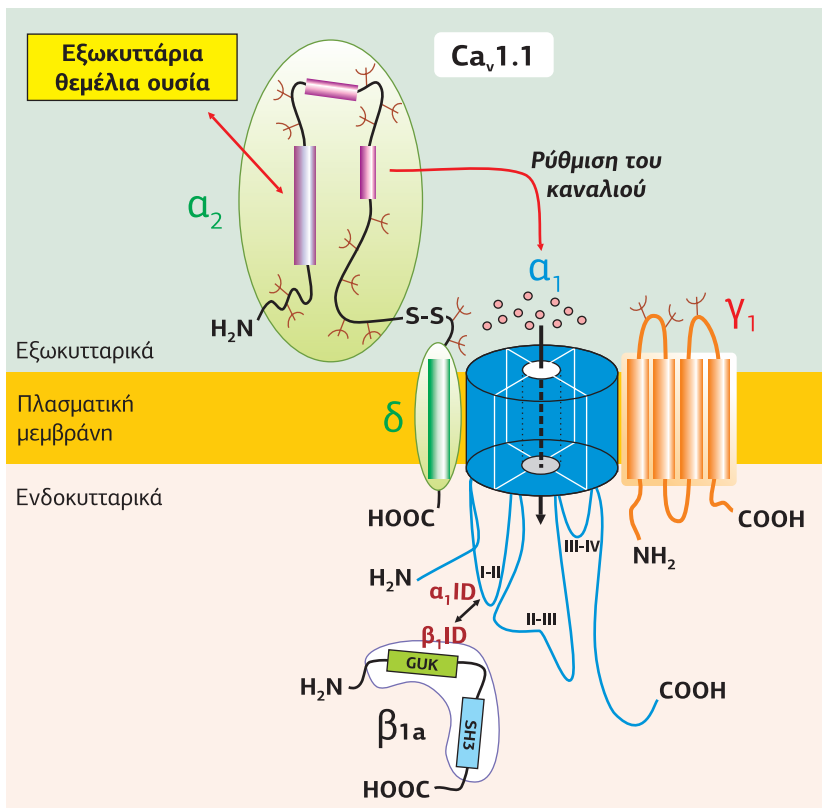
Τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} (VOCCs, Voltage-Operated Calcium Channels) βρίσκονται στην πλασματική μεμβράνη των διεγερσιμων κυττάρων (νευρικών, μυϊκών κ.λπ.) και ανοίγουν έπειτα από εκπόλωση. Παίζουν σημαντικό ρόλο στην απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή στη σύναψη, και στη σύσπαση των μυϊκών κυττάρων.

Η δομή των VOCCs είναι όμοια με τη δομή των τασσο-εξαρτώμενων καναλιών Na^+ (βλ. **Εικόνα 4.17B**). Αποτελούνται από μια μονομερή διαμεμβρανική κύρια α_1 -υπομονάδα, η οποία περιέχει 4 μοτίβα 6 διαμεμβρανικών ελίκων (S1-S6) με έναν χαρακτηριστικό P-βρόχο ανάμεσα στις S5-S6 έλικες. Η α_1 περιβάλλεται από 4 διακριτές συμπληρωματικές υπομονάδες (α_2 , β , γ , δ) με σταθεροποιητικό και ρυθμιστικό ρόλο. Οι α_2 και δ υπομονάδες κωδικοποιούνται από το ίδιο γονίδιο, του οποίου το προϊόν κόβεται πρωτεολυτικά και τα δύο τμήματα, η εξωκυτταρική γλυκοπρωτεΐνη α_2 και η διαμεμβρανική δ , συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικό δεσμό (**Εικόνα 4.29**). Οι $\alpha_2\delta$ υπομονάδες αυξάνουν το ρεύμα εισόδου, επιταχύνουν την κινητική ενεργοποίησης και απενεργοποίησης του καναλιού και περιέχουν μια θέση σύνδεσης για το σπασμολυτικό φάρμακο gabapentin. Η β -υπομονάδα είναι μια ενδοκυτταρική MAGUK-like protein (Membrane-Associated Guanylate Kinase), που περιέχει μια SH3 (Src Homology 3) περιοχή, μια περιοχή γουανυλικής κινάσης (GUK), η οποία είναι ενζυμικά ανενεργή και περιέχει μια β_1 -Interacting domain, η οποία αλληλεπιδρά με μια περιοχή 18 αα α_1ID (α_1 -Interaction Domain) της α_1 υπομονάδας. Η σύνδεση αυτή διευκολύνει τη μεταφορά της α_1 από το ΕΔ στην πλασματική μεμβράνη. Η γ -υπομονάδα είναι γλυκοπρωτεΐνη με τέσσερις διαμεμβρανικές περιοχές και η ισομορφή γ_1 συναντάται στους σκελετικούς μύς, όπου μειώνει το ρεύμα εισόδου.

Ο άνθρωπος έχει 22 γονίδια που κωδικοποιούν α_1 -υπομονάδες. Σε συνδυασμό με τα τέσσερα $\alpha_2\delta$ γονίδια, τα τέσσερα β και τα οκτώ γ , θεωρητικά μπορεί να προκύψουν πάνω από 1.000 διαφορετικοί συνδυασμοί.

Με βάση τα φαρμακολογικά δεδομένα, τα VOCCs ταξινομούνται σε 5 υποοικογένειες, L, N, P/Q, R, και T, οι οποίες διαφοροποιούνται κυρίως με βάση τη δομή της α_1 -υπομονάδας.

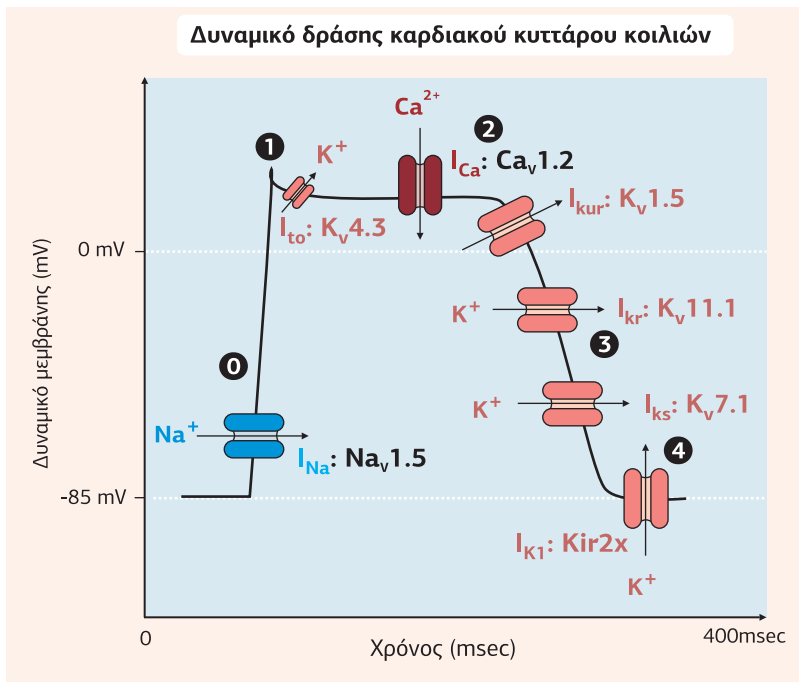
Τα κανάλια Ca^{2+} L-τύπου (Long-lasting) ή υποδοχείς διυδροπυριδίνης (DHP) ή $Ca_v1.1-1.4$ βρίσκονται κυρίως στα μυϊκά κύτταρα (καρδιακά, λεία, σκελετικά), όπου εμπλέκονται στη σύνδεση διέγερσης-σύσπασης. Η διυδροπυριδίνη είναι το

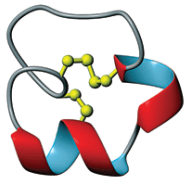
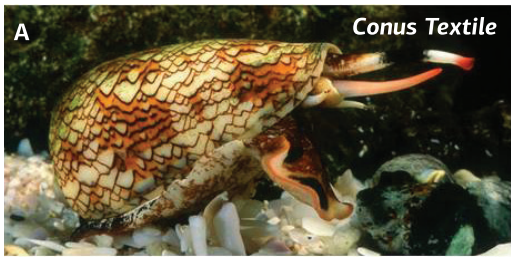


Εικόνα 4.29
Δομική οργάνωση των υπομονάδων των τάσο-εξαρτώμενων καναλιών Ca²⁺. Τα VOCCs αποτελούνται από 5 υπομονάδες (α₁, α₂, β, γ, δ). Μια κεντρική, την α₁, που δημιουργεί τον πόρο του καναλιού και 4 συμπληρωματικές. Η β-υπομονάδα είναι ενδοκυτταρική και περιέχει μια περιοχή γουανυλικής κινάσης (GUK) και μια SH3 περιοχή. Η γ-υπομονάδα είναι γλυκοπρωτεΐνη με τέσσερις διαμεμβρανικές περιοχές. Η δ υπομονάδα είναι διαμεμβρανική, συνδέεται με S-S δεσμούς με την α₂, η οποία βρίσκεται εξωκυτταρικά, είναι υψηλά γλυκοσυλιωμένη και περιέχει θέσεις αλληλεπίδρασης με την εξωκυττάρια θεμέλια ουσία. [104]

πρότυπο μιας οικογένειας φαρμάκων, που μπλοκάρουν με διαφορετικές συγγένειες όλα τα κανάλια L-τύπου και χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία της στηθάγχης, της καρδιακής αρρυθμίας και της υπέρτασης. Στα σκελετικά μυϊκά κύτταρα εκφράζονται τα κανάλια Ca_v1.1, τα οποία συνδέονται με τους υποδοχείς ρυανοδίνης (RyR1) του ΣΔ ρυθμίζοντας το άνοιγμά τους. Στα καρδιακά κύτταρα εκφράζονται τα Ca_v1.2, τα οποία είναι υπεύθυνα για το αργό ρεύμα εισόδου Ca²⁺, το οποίο αντιτίθεται στο ρεύμα εξόδου K⁺ και

Εικόνα 4.30
Το δυναμικό δράσης ενός καρδιακού μυϊκού κυττάρου των κοιλιών. Η ανοδική φάση του δυναμικού δράσης οφείλεται στην είσοδο ιόντων Na⁺ από τάσο-εξαρτώμενα κανάλια Na⁺ (ρεύμα I_{Na}). Η είσοδος Na⁺ σταματά μέσα σε 1 msec, γιατί τα κανάλια αυτά απενεργοποιούνται πολύ γρήγορα και δεν ανακάμπτουν (συνεπώς τα κύτταρα παραμένουν ανερέθιστα) έως ότου επαναπολωθεί η κυτταρική μεμβράνη. Η φάση 1 είναι μια μικρή περίοδος περιορισμένης επαναπόλωσης, η οποία οφείλεται σε ένα παροδικό εξερχόμενο ρεύμα K⁺ (I_{to}). Κατά τη φάση 2 ή υψηλόπεδο (plateau) το δυναμικό της μεμβράνης είναι ελαφρώς θετικό και παραμένει σταθερό για 100-300 msec. Η εκροή K⁺ εξισορροπείται με εισροή Ca²⁺ (ρεύμα I_{CaL}), η οποία ευθύνεται για το άνοιγμα των RyR2 του ΣΔ. Στη φάση επαναπόλωσης η είσοδος Ca²⁺ ελαττώνεται, ενώ αυξάνεται η έξοδος K⁺ από τρεις τύπους καναλιών K⁺, τα κανάλια K_v1.5, υπεύθυνα για το ρεύμα I_{Kur}, τα κανάλια K_v11.1, υπεύθυνα για το ρεύμα I_{Kr}, και τα κανάλια K_v7.1, υπεύθυνα για το ρεύμα I_{Ks}. Τα κανάλια Kir, επανορθωτικού ρεύματος K⁺, κλείνουν στην ανοδική φάση, για να διευκολύνουν την εκπόλωση και ανοίγουν στο τέλος του δυναμικού δράσης, για να ολοκληρώσουν την επαναπόλωση (ρεύμα I_{K1}).

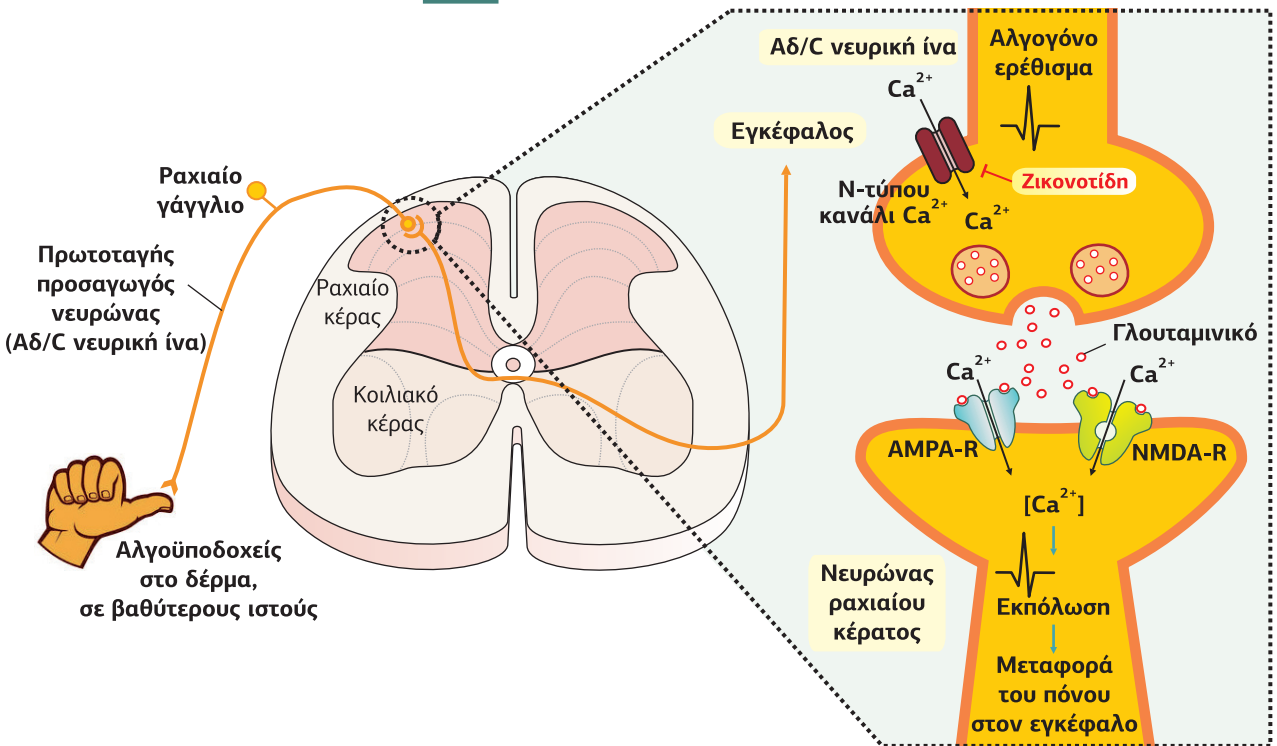
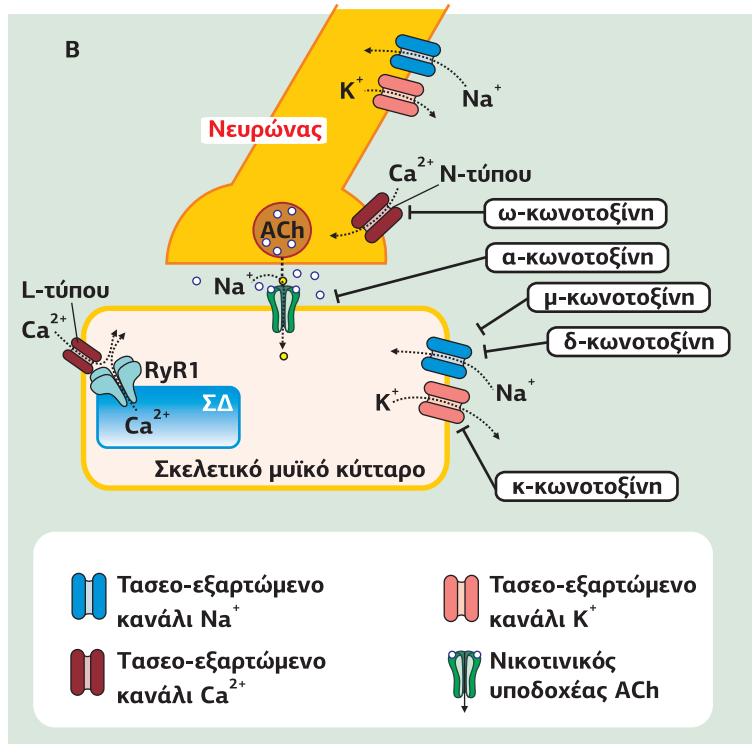




Κωνοτοξίνη

Εικόνα 4.31

A. Οι κωνοτοξίνες είναι μια ομάδα μικρών πεπτιδίων που βρίσκονται στο δηλητήριο του θαλάσσιου σαλιγκαριού *Conus textile*.
 B. Διακρίνεται μια νευρομυϊκή σύναψη, όπου η ω-κωνοτοξίνη μπλοκάρει τα N-τύπου τασο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} στο προσυναπτικό άκρο ενός χολινεργικού νευρώνα, η μ- και η δ-κωνοτοξίνη μπλοκάρουν τασο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ · η κ-κωνοτοξίνη μπλοκάρει τα τασο-ευαίσθητα κανάλια K^+ και η α-κωνοτοξίνη νικοτινικούς υποδοχείς.



Εικόνα 4.32

Τα τασο-εξαρτώμενα N-τύπου κανάλια Ca^{2+} βρίσκονται στο συναπτικό άκρο των προσαγωγών αισθητήριων νευρώνων Αδ/С, στο ραχιαίο κέρασ του νωτιαίου μυελού, όπου ελέγχουν την απελευθέρωση του γλουταμινικού. Το γλουταμινικό συνδέεται στους υποδοχείς AMPA και NMDA του μετασυναπτικού νευρώνα και το μήνυμα του πόνου μεταφέρεται στον εγκέφαλο. Οι αναστολείς των N-τύπου καναλιών Ca^{2+} , όπως η ζικονοτιδίη, έχουν ισχυρή αναλγητική δράση.

δημιουργεί το υψίπεδο (plateau) του καρδιακού δυναμικού δράσης (Εικόνα 4.30). Τα κανάλια L-τύπου ανοίγουν σταδιακά, όσο το δυναμικό της μεμβράνης αποκτά λιγότερο αρνητικές τιμές, και στη φάση της μέγιστης εκπόλωσης, στην κορυφή του δυναμικού δράσης, είναι ανοιχτό το 70% των καναλιών.

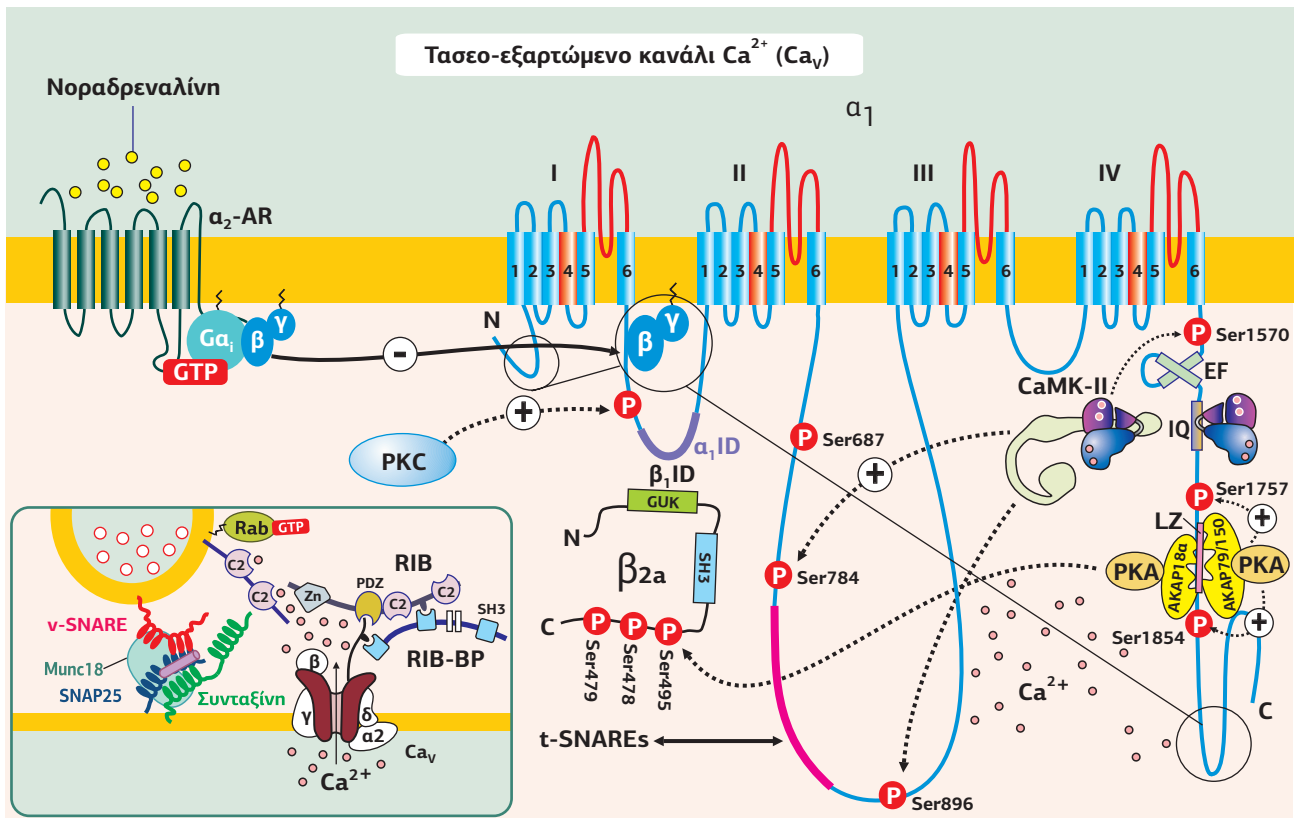
Τα κανάλια N-τύπου (Neural), P/Q, T και R, βρίσκονται στο προσυναπτικό άκρο των νευρώνων. Αποκρίνονται στις αλλαγές δυναμικού που προκαλεί η άφιξη των δυναμικών δράσης στο συναπτικό άκρο και αποτελούν στόχους για νευροτοξίνες, όπως η ω-κωνοτοξίνη και η ω-αγκατοξίνη. Οι κωνοτοξίνες είναι μια ομάδα πεπτιδίων (α, δ, μ, ω) 10-20 αμινοξέων που περιέχουν έναν ή περισσότερους δισουλφιδικούς δεσμούς, βρίσκονται στο δηλητήριο των θαλάσσιων σαλιγκαριών του γένους *Copus* και μπλοκάρουν διάφορους τύπους καναλιών (Εικόνα 4.31). Η α-κωνοτοξίνη αναστέλλει τους νικοτινικούς υποδοχείς στη νευρομυϊκή σύναψη, η μ- αναστέλλει τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ , υπεύθυνα για το δυναμικό δράσης (βλ. Εικόνα 4.23) και η ω-κωνοτοξίνη αναστέλλει εξειδικευμένα τα N-τύπου τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} .

Τα N-τύπου VOCCs βρίσκονται, επίσης, στις συναπτικές απολήξεις των αισθητήριων Αδ/С νευρώνων στο ραχιαίο κέρας του νωτιαίου μυελού. Η ενεργοποίηση των αλγοϋποδοχέων των Αδ/С νευρώνων μεταφέρεται κατά μήκος του άξονα στη σύναψη, από όπου απελευθερώνεται Ca^{2+} -εξαρτώμενα ο νευροδιαβιβαστής (γλουταμινικό οξύ). Το μήνυμα του πόνου, στη συνέχεια, μεταφέρεται στον εγκέφαλο. Η αναστολή των N-τύπου VOCCs από φάρμακα, όπως η ζικονοτίδη, ένα ανάλογο της ω-κωνοτοξίνης, έχει αναλγητικά αποτελέσματα, και μάλιστα 1.000 φορές ισχυρότερα από αυτά της μορφίνης (Εικόνα 4.32).

Ρύθμιση των τασσο-εξαρτώμενων καναλιών Ca^{2+}

Λόγω του σημαντικού ρόλου των VOCCs, αλλά και του Ca^{2+} στη σηματοδότηση, απαιτείται μια πολύ ακριβής ρύθμιση της λειτουργίας τους. Όπως και τα κανάλια Na_v και K_v , τα VOCCs υπόκεινται σε αυτοαναστολή, εξασφαλίζοντας τον έλεγχο της διάρκειας του σήματος Ca^{2+} και εμποδίζοντας μια μοιραία για το κύτταρο αύξηση

Εικόνα 4.33
Θέσεις ρύθμισης των διαφορετικών τασσο-εξαρτώμενων N-τύπου καναλιών Ca^{2+} . Στη δομή των καναλιών Ca^{2+} , η οποία μοιάζει με τη δομή των καναλιών Na^+ , υπάρχει η περιοχή α_1ID (α_1 -Interaction Domain) στον βρόχο ανάμεσα στις υποπεριοχές I και II. Το COOH-τελικό άκρο της $\alpha_1.2$ περιέχει μια περιοχή IQ, αλληλεπίδρασης με την καλμοδουλίνη (CaM), και μία περιοχή EF-hand, οι οποίες αποτελούν θέσεις ελέγχου αρνητικής ανατροφοδότησης αν αυξηθεί το Ca^{2+} . Επιπλέον, το άνοιγμα των VOCCs αναστέλλεται από την αλληλεπίδραση με τις Gβγ υπομονάδες. Στα N-τύπου κανάλια ($\alpha_1.2$) ο μεγάλος ενδοκυτταρικός βρόχος ανάμεσα στις υποπεριοχές II και III περιέχει μια περιοχή αλληλεπίδρασης με το σύμπλοκο t-SNARE της μεμβράνης του προσυναπτικού νευρώνα και επάγει την απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή. Διακρίνονται, επίσης, οι θέσεις φωσφορυλίωσης από τις κινάσες PKA, PKC και CaMK-II.



Εικόνα 4.34

Η δομή και οι υπότυποι των καναλιών που ρυθμίζονται από κυκλικά νουκλεοτίδια.

A. Είναι ετεροτετραμερή κανάλια που αποτελούνται από 4 πρωτεϊνικές υπομονάδες. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από έξι διαμεμβρανικές περιοχές (S1-S6) και έναν P-βρόχο ανάμεσα στις S5-S6 α-έλικες. Στα θηλαστικά κωδικοποιούνται 4 A- και 2 B-υπομονάδες. Οι υπομονάδες A1-A4 περιέχουν στο COOH-τελικό άκρο μια θέση σύνδεσης των κυκλικών νουκλεοτιδίων (CNBD), ενώ οι υπομονάδες B1(a/b) περιέχουν στο NH₂-τελικό άκρο τους μια θέση σύνδεσης της καλμοδουλίνης.

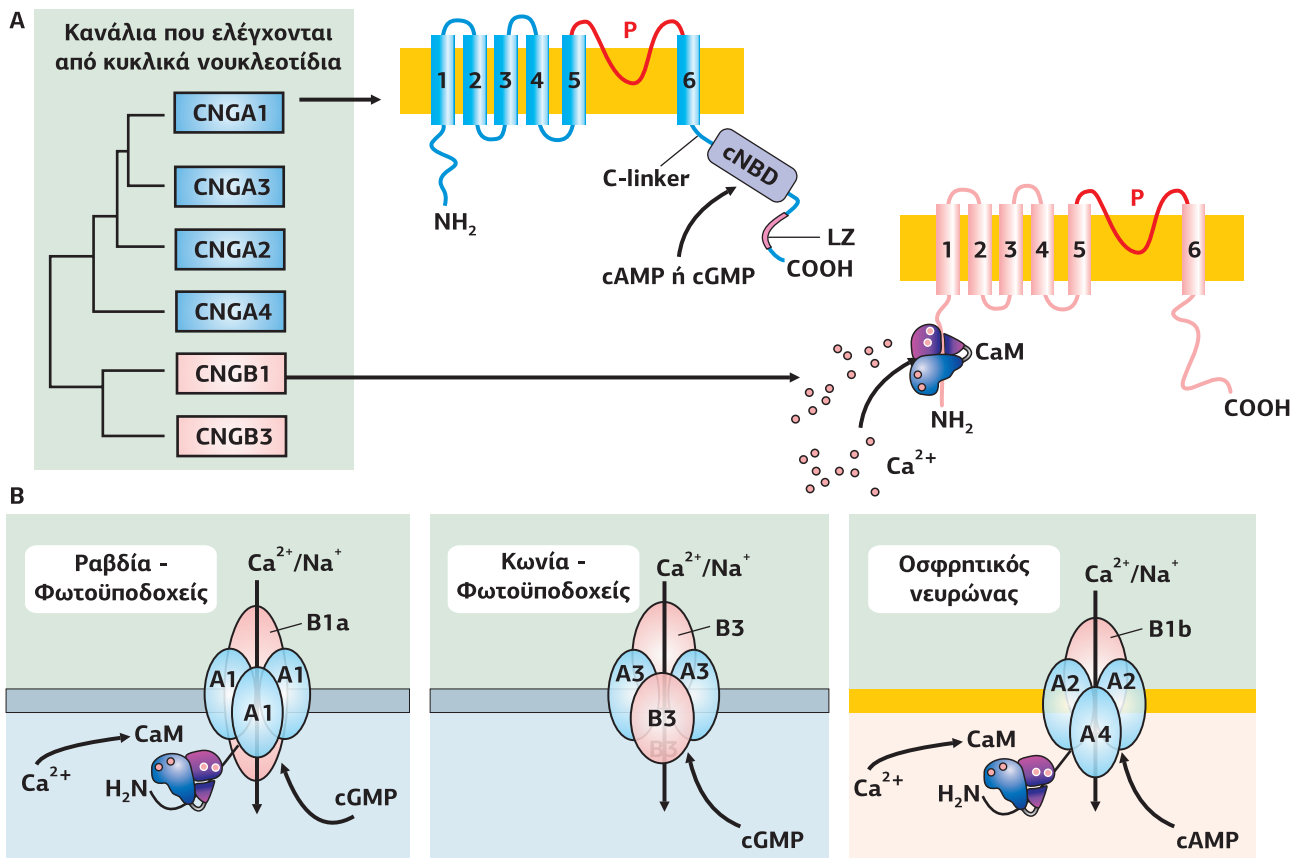
B. Τα cGMP-εξαρτώμενα κανάλια των ραβδίων αποτελούνται από 3 A1-υπομονάδες και μία B1a-υπομονάδα, ενώ των κωνίων από 2 A3 και 2 B3-υπομονάδες. Στους οσφρητικούς νευρώνες τα CNGCs αποτελούνται από 3 A-υπομονάδες (δύο A2 και μια A4) και μια B1b-υπομονάδα.

της συγκέντρωσης Ca²⁺. Η συσχέτιση με τις βοηθητικές β-υπομονάδες ρυθμίζει τα χαρακτηριστικά αδρανοποίησης της α1 υπομονάδας μέσω λειτουργικών (και πιθανώς άμεσων) αλληλεπιδράσεων μεταξύ της β υπομονάδας και της N-τελικής περιοχής της α1 υπομονάδας. Επιπλέον, τα ίδια τα ιόντα Ca²⁺ μπλοκάρουν το κανάλι αλληλεπιδρώντας με μια πρωτεΐνη-αισθητήρα Ca²⁺, την καλμοδουλίνη (CaM), η οποία αποτελεί μια ξεχωριστή υπομονάδα του καναλιού, μη ομοιοπολικά συνδεδεμένη στο COOH-τελικό του άκρο.

Αντιθέτως, η φωσφορυλίωση των VOCCs, που καταλύεται από τις κινάσες PKA, PKC, CaMK-II, διευκολύνει και επιμηκύνει τη διάρκεια του ανοίγματος του καναλιού, επηρεάζοντας παροδικά τη δράση της αδρεναλίνης στην καρδιά. Για παράδειγμα, οι υπομονάδες α₁1.1/1.2 φωσφορυλιώνονται από την PKA, η α₁1.2 φωσφορυλιώνεται από την CaMK-II και η α₂1.1 φωσφορυλιώνεται από την PKC και την CaMK-II (βλ. **Εικόνα 4.11**). Τα L-τύπου κανάλια ρυθμίζονται και από S-νιτροσουλίωση (βλ. **Εικόνα 1.18**). Τα κανάλια Ca²⁺, που βρίσκονται στο νευρικό σύστημα (α₁2.1), αναστέλλονται εξειδικευμένα από τις Gβγ-υπομονάδες των Gα_{i/o} πρωτεϊνών, οι οποίες συνδέονται σε έναν θύλακα που δημιουργείται από τον ενδοκυτταρικό βρόχο ανάμεσα στην I και II υποπεριοχή, την NH₂- και την COOH-τελική περιοχή (**Εικόνα 4.33**).

3.5 Κανάλια που ελέγχονται από κυκλικά νουκλεοτίδια

Ένας άλλος τύπος καναλιών κατιόντων της οικογένειας S5-S6 είναι τα προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια, τα οποία ελέγχονται από δευτέρους διαβιβαστές κυκλικά νουκλεοτίδια, cGMP και cAMP (CNGC: Cyclic Nucleotide-Gated Ion Channels). Ανακαλύφθηκαν αρχικά στα σηματοδοτικά μονοπάτια της όρασης (**cGMP-εξαρτώμενα κανάλια**) και της όσφρησης (**cAMP-εξαρτώμενα κανάλια**) στα θηλαστικά, εκφράζονται όμως και στον εγκέφαλο, στους όρχεις και στους νεφρούς. Είναι

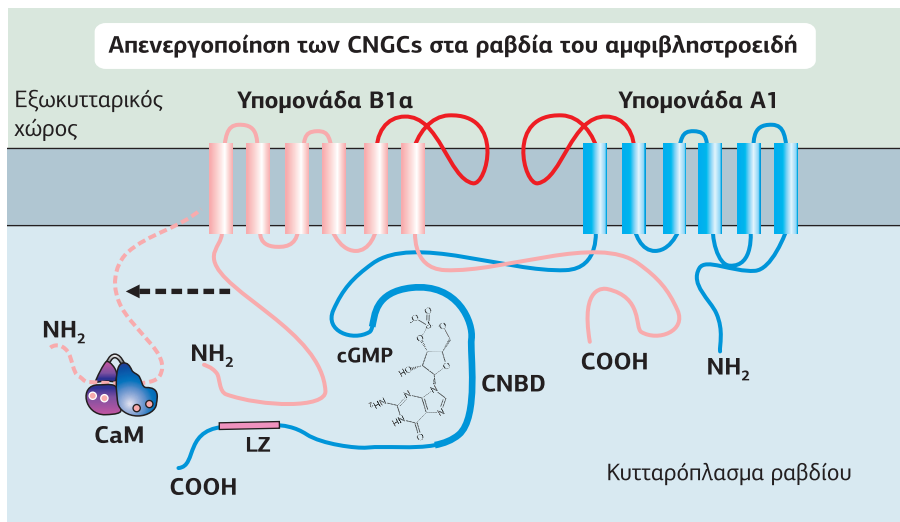
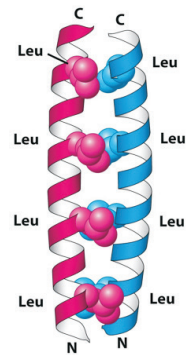


διαπερατά στο Na^+ και στο Ca^{2+} , με τα κανάλια που ελέγχονται από το cGMP να εμφανίζουν μεγαλύτερη διαπερατότητα για το Na^+ . Ανοίγουν απευθείας από κυκλικά νουκλεοτίδια, ενώ παρουσιάζουν μικρή ευαισθησία στο δυναμικό, καθώς η S4 περιοχή, η οποία κανονικά λειτουργεί ως αισθητήρας τάσης, δεν περιέχει αρκετά θετικά φορτισμένα αμινοξέα.

Όλα τα κανάλια που ρυθμίζονται από κυκλικά νουκλεοτίδια έχουν την ίδια χαρακτηριστική δομή. Αποτελούνται από 4 υπομονάδες (A- και B-), οι οποίες κωδικοποιούνται από έξι διαφορετικά γονίδια, 4 για τις A-υπομονάδες (A1-A4) και 2 τις B- (B1 και B3), οι συνδυασμοί των οποίων δημιουργούν διαφορετικούς τύπους CNGCs. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από έξι διαμεμβρανικές περιοχές, με το COOH - και το NH_2 -τελικό άκρο τους στην κυτταροπλασματική περιοχή. Η δομή τους μοιάζει με αυτή των καναλιών K^+ , με τον P-βρόχο της κάθε υπομονάδας να συμμετέχει στη δημιουργία του στομίου του πόρου. Οι υπομονάδες CNGA1-CNGA4 στο COOH -τελικό άκρο περιέχουν α. μια περιοχή σύνδεσης του cAMP/cGMP, **CNBD** (Cyclic Nucleotide Binding Domain), β. μια περιοχή **C-linker** που συνδέει την CNBD με την S6 α-έλικα και παίζει σημαντικό ρόλο στην αλλοστερική ρύθμιση του καναλιού, και γ. μια COOH -τελική περιοχή **CLZ** (Carboxy-terminal Leucine Zipper).

Οι υπομονάδες CNGB1(a/b) έχουν ρυθμιστικό ρόλο και γι' αυτό και στο NH_2 -τελικό άκρο τους έχουν μια θέση σύνδεσης για την καλμοδουλίνη (**Εικόνα 4.34**). Η αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} μετά το άνοιγμα των καναλιών οδηγεί στη δημιουργία του συμπλόκου Ca^{2+} /καλμοδουλίνης στο NH_2 -τελικό άκρο των CNGB1(a/b) υπομονάδων και, αλλάζοντας τη διαμόρφωση, ελαττώνει τη συγγένεια των καναλιών για τα κυκλικά νουκλεοτίδια (cAMP, cGMP) (**Εικόνα 4.35**). Σε αυτόν τον μηχανισμό αρνητικού feed-back οφείλεται η γρήγορη προσαρμογή των οσφρητικών υποδοχέων και των φωτοϋποδοχέων των ραβδίων.

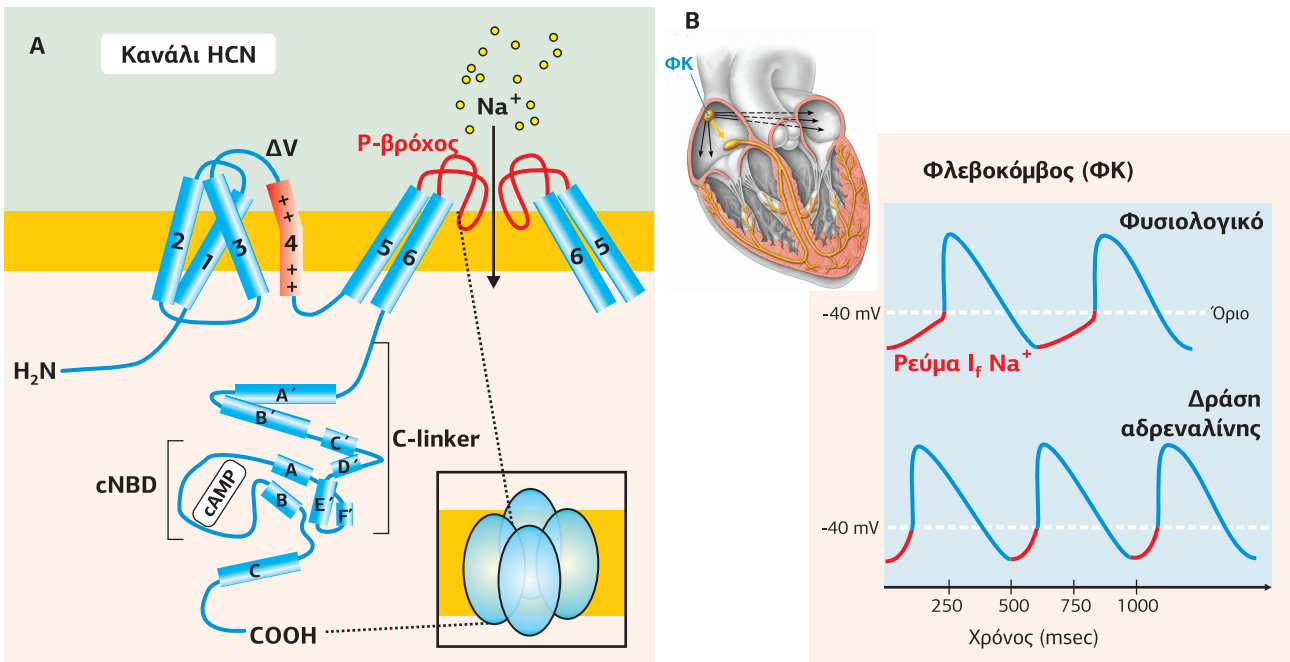
Το **μοτίβο leucine zipper (LZ)** είναι ένα τριδιάστατο δομικό μοτίβο που συναντάται σε πρωτεΐνες. Πρωτοπεριγράφηκε από τον Landschulz το 1988. Αποτελείται από 30 αμινοξέα, τα οποία σχηματίζουν μια α-έλικα, που περιέχει περιοδική επανάληψη ενός καταλοίπου λευκίνης κάθε έξι αμινοξέα. Πρόκειται για μια περιοχή που επάγει τον διμερισμό των πρωτεϊνών.



Μια υποκατηγορία των καναλιών CNG αποτελούν τα κανάλια που ελέγχονται από κυκλικά νουκλεοτίδια και ενεργοποιούνται από υπερπόλωση (HCN, Hyperpolarization and Cyclic Nucleotide-gated channels). Εκφράζονται στον εγκέφαλο (στον προμετωπιαίο φλοιό) και στην καρδιά (στον φλεβόκομβο) και ανοίγουν έπειτα από υπερπόλωση της πλασματικής μεμβράνης, καθώς η S4 διαμεμβρανική περιοχή περιέχει επαρκή θετικά φορτισμένα αμινοξέα. Επίσης, ο P-βρόχος που δημιουργεί το στόμιο του καναλιού προσδίδει την εκλεκτική διαπερατότητα σε ιόντα Na^+ (**Εικόνα 4.36**). Τα HCN δρουν ως **κανάλια βηματοδότες** "pacemaker channels", γιατί είναι υπεύθυνα για την αυτόματη δημιουργία δυναμικών δράσης, καθώς ανοίγουν μετά την υπερπόλωση που προκαλείται από την έξοδο K^+ κατά την καθοδική φάση του δυναμικού δράσης και ευθύνονται για την έναρξη ενός νέου δυναμικού δράσης. Η ικανότητα της αδρεναλίνης να επιταχύνει τον καρδιακό

Εικόνα 4.35

Η σύνδεση του Ca^{2+} στην καλμοδουλίνη, η οποία βρίσκεται δεσμευμένη στο NH_2 -τελικό άκρο των B-υπομονάδων (CNGB1a/b) οδηγεί στην απενεργοποίηση των καναλιών CNG. Διακρίνεται η θέση πρόσδεσης του cGMP στο COOH -τελικό άκρο της υπομονάδας CNGA1 και η θέση πρόσδεσης του συμπλόκου Ca^{2+} /καλμοδουλίνης στο NH_2 -τελικό άκρο της υπομονάδας CNGB1a. Η σύνδεση του συμπλόκου Ca^{2+} /καλμοδουλίνης εμποδίζει την αλληλεπίδραση του NH_2 -τελικού με το COOH -τελικό άκρο και, κατά συνέπεια, επηρεάζει τη συγγένεια του καναλιού για το cGMP. Η CNGB1a υπομονάδα των cGMP-εξαρτώμενων καναλιών των ραβδίων περιέχει και μια περιοχή GARP (Glutamic Acid Rich domain) μέσω της οποίας συνδέονται με την περιφερική της μεμβράνης (βλ. Εικόνα 6.44). [98]



Εικόνα 4.36

A. Μια υπομονάδα (από τις 4) ενός καναλιού HCN. Διακρίνεται η περιοχή C-linker, η οποία αποτελείται από 6 α-έλικες (A'-F'), και η θέση σύνδεσης cAMP (Cyclic Nucleotide Binding Domain, cNBD) που αποτελείται από δύο α-έλικες (A, B) και 8 πτυχωτά φύλλα ανάμεσα στην A και B α-έλικα (δεν διακρίνονται). Επίσης, η S4 περιοχή λόγω των θετικά φορισμένων αμινοξέων που περιέχει ελέγχεται από το δυναμικό. [12] B. Η αδρεναλίνη αυξάνει τη συχνότητα παραγωγής δυναμικών δράσης από τον φλεβοκόμβο καθώς αυξάνει την παραγωγή cAMP και ενεργοποιεί τα κανάλια HCN, τα οποία είναι υπεύθυνα για το ρεύμα εισόδου $Na^+ I_f$ (funny pacemaker current).

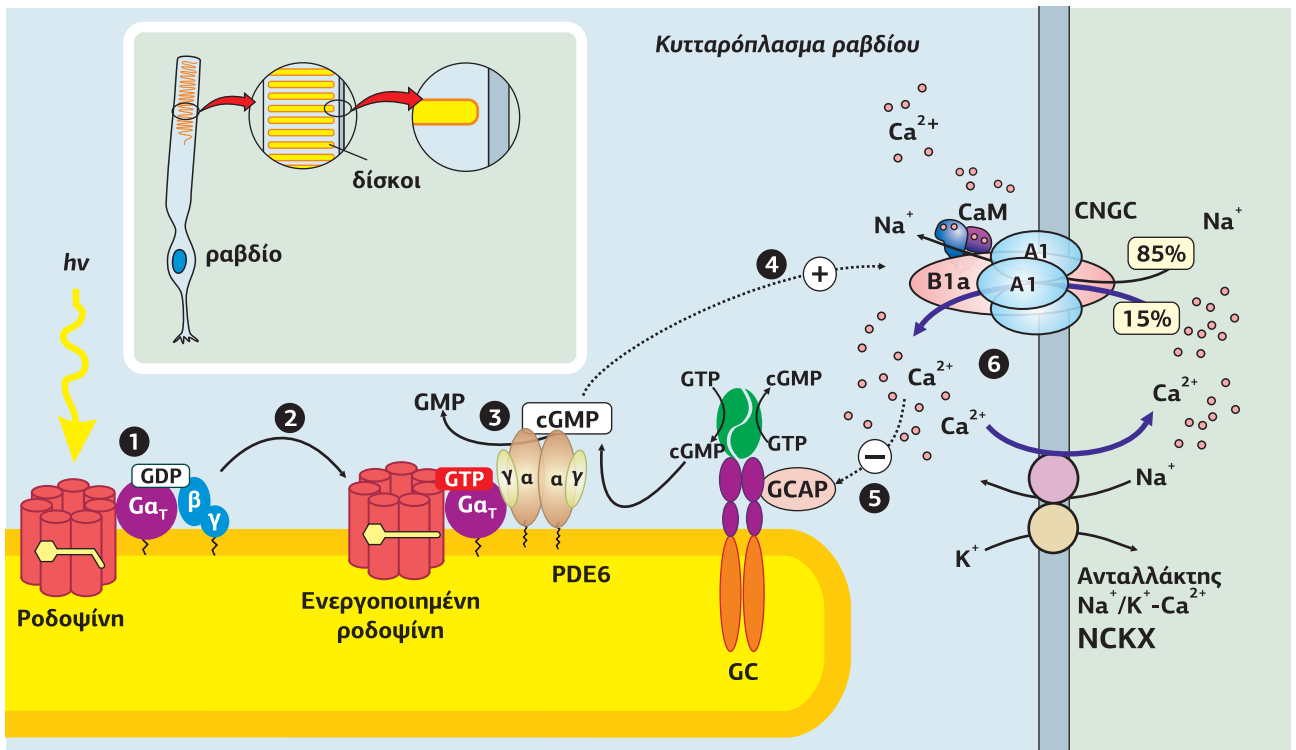
ρυθμό οφείλεται στην παραγωγή cAMP, το οποίο συνδέεται στα HCN και μετακινεί την ικανότητα ενεργοποίησής τους προς πιο εκπολωμένα δυναμικά, αυξάνοντας τη συχνότητα των δυναμικών δράσης.

Ο ρόλος των cGMP-εξαρτώμενων καναλιών στη φωτοδιαβίβαση των σπονδυλωτών

Το 1985 μελετώντας την προσαρμογή στο φως του αμφιβληστροειδούς του βατράχου, ανακαλύφθηκε ότι το cGMP ήταν ικανό να ενεργοποιήσει απευθείας το φωτο-εξαρτώμενο άνοιγμα των καναλιών ιόντων στα ραβδία. Η πορεία της σηματοδότησης στην όραση περιληπτικά είναι η ακόλουθη: Αρχικά το φωτεινό σήμα καταγράφεται από τον φωτοϋποδοχέα (ροδοψίνη). Αφού ενεργοποιηθεί ο υποδοχέας, ένας GPCR, οδηγεί το σήμα, μέσω της G-πρωτεΐνης (ονομάζεται τρανσδοουσίνη), στη φωσφοδιεστεράση του cGMP (PDE6). Ως συνέπεια της ενεργοποίησης της φωσφοδιεστεράσης μειώνεται η συγκέντρωση του cGMP. Στο σκοτάδι η σύνδεση του cGMP στην ενδοκυτταρική cNBD περιοχή των καναλιών CNG προάγει το άνοιγμά τους και οδηγεί στην εκπόλωση του κυττάρου. Λόγω του φωτεινού ερεθίσματος, η συγκέντρωση του cGMP ελαττώνεται, το κανάλι κλείνει και παρατηρείται μία απότομη πτώση στην ενδοκυτταρική συγκέντρωση Ca^{2+} και Na^+ , που έχει ως αποτέλεσμα την υπερπόλωση του κυττάρου (**Εικόνα 4.37**).

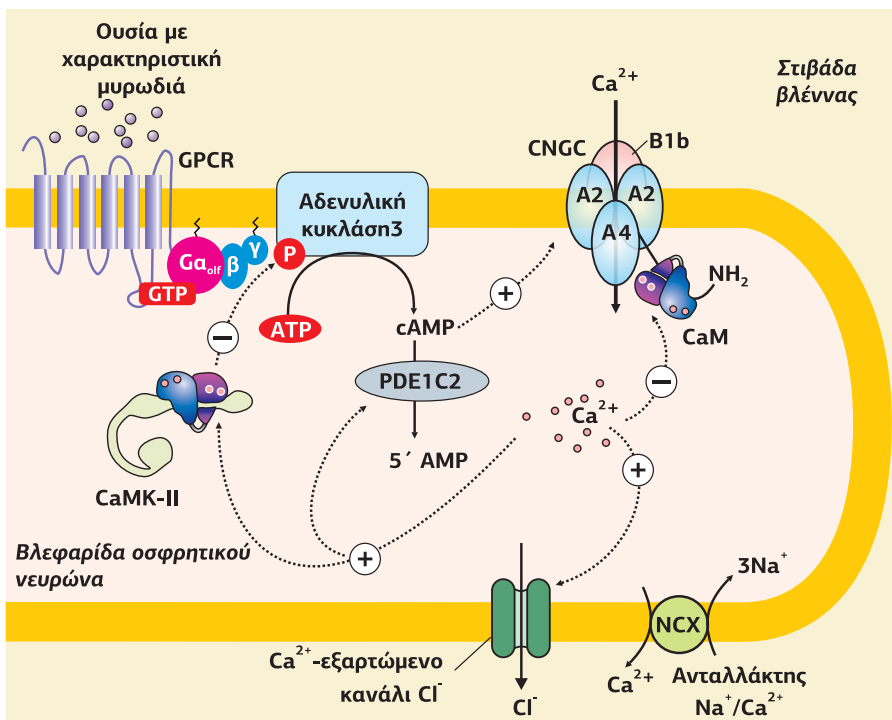
Ο ρόλος των cAMP-εξαρτώμενων καναλιών στην όσφρηση

Η πορεία της σηματοδότησης στην αίσθηση της όσφρησης περιληπτικά είναι η ακόλουθη: Αρχικά, η χημική ουσία με τη χαρακτηριστική οσμή συνδέεται σε έναν GPCR. Ο υποδοχέας αυτός ενεργοποιείται και μέσω της G-πρωτεΐνης, ενεργοποιεί την αδενυλική κυκλάση, η οποία παράγει cAMP. Το cAMP συνδέεται στην κυτταροπλασματική περιοχή cNBD ενός καναλιού ιόντων Ca^{2+}/Na^+ , που βρίσκεται στις βλεφαρίδες του οσφρητικού νευρώνα. Η σύνδεση του cAMP στο κανάλι προάγει το άνοιγμά του, η ενδοκυτταρική συγκέντρωση Ca^{2+} και Na^+ αυξάνεται, με αποτέλεσμα την εκπόλωση του κυττάρου. Η εκπόλωση ενισχύεται από το Ca^{2+} -εξαρτώμενο άνοιγμα καναλιών Cl^- , που οδηγεί σε έξοδο ιόντων Cl^- . Επιπλέον, η αύξηση του Ca^{2+} , μέσω της καλμοδουλίνης, αναστέλλει τη λειτουργία των CNGCs και ταυτόχρονα ενεργοποιεί μια φωσφοδιεστεράση του cAMP (PDE1C2), η οποία καταβολίζει το cAMP. Είναι ένας μηχανισμός αρνητικής ανατροφοδότησης, υπεύθυνος για τη γρήγορη προσαρμογή σε έντονα οσφρητικά ερεθίσματα (**Εικόνα 4.38**).



Εικόνα 4.37

Κυτταρική σηματοδότηση για την αίσθηση της όρασης στα σπονδυλωτά. (1) Η ροδοψίνη (ο φωτοϋποδοχέας των ραβδίων) ενεργοποιείται μετά από την cis/trans ισομερίωση της ρετινάλης από το φως. (2) Η ενεργοποιημένη ροδοψίνη μεταβιβάζει το σήμα στην τρανσδουσίνη. (3) Ο τελεστής της $G\alpha_T$ -GTP είναι η φωσφοδιεστεράση PDE6, η οποία υδρολύει το cGMP σε GMP. Ως αποτέλεσμα μειώνεται η συγκέντρωση του cGMP. (4) Το cGMP είναι ο προσδέτης των καναλιών CNG, τα οποία είναι κανάλια Na^+/Ca^{2+} . Η μείωση του cGMP οδηγεί στο κλείσιμο των καναλιών, με μείωση της συγκέντρωσης του Na^+ και Ca^{2+} και υπερπόλωση του ραβδίου. Η υπερπόλωση καταγράφεται ως ένα φωτεινό σήμα. (5) Η μείωση του Ca^{2+} ενεργοποιεί μέσω της GCAP (Guanylate Cyclase-Activating Protein) τη γουανυλική κυκλάση (GC), η οποία καταλύει τη σύνθεση του cGMP. Το cGMP επάγει το άνοιγμα των CNG, με αποτέλεσμα την είσοδο Na^+ και Ca^{2+} στο κύτταρο. (6) Το Ca^{2+} απομακρύνεται από το κύτταρο μέσω ενός ανταλλάκτη $Na^+/Ca^{2+}-K^+$.



Εικόνα 4.38

Κυτταρική σηματοδότηση για την αίσθηση της όσφρησης στα σπονδυλωτά. Η οσμή συνδέεται σε έναν υποδοχέα (GPCR) που βρίσκεται στη μεμβράνη των βλεφαρίδων του οσφρητικού νευρώνα. Ο GPCR ενεργοποιείται και μέσω της $G\alpha_{olf}$ πρωτεΐνης, διεγείρει την αδενυλική κυκλάση (AC3), η οποία παράγει cAMP. Το cAMP συνδέεται στα CNGCs, κανάλια Ca^{2+}/Na^+ . Το άνοιγμα των καναλιών αυξάνει την ενδοκυττάρια συγκέντρωση Ca^{2+} και Na^+ , με αποτέλεσμα την εκπόλωση του οσφρητικού νευρώνα, η οποία ενισχύεται από το Ca^{2+} -εξαρτώμενο άνοιγμα καναλιών Cl^- . Η αύξηση του Ca^{2+} αφενός ενεργοποιεί τη φωσφοδιεστεράση PDE1C2, η οποία καταβολίζει το cAMP, και αφετέρου ενεργοποιεί την κινάση CaMK-II, η οποία αναστέλλει την αδενυλική κυκλάση AC3.

3.6

Κανάλια-υποδοχείς τριφωσφορικής ινοσιτόλης (InsP₃) και ρυανοδίνης στο ΕΔ/ΣΔ

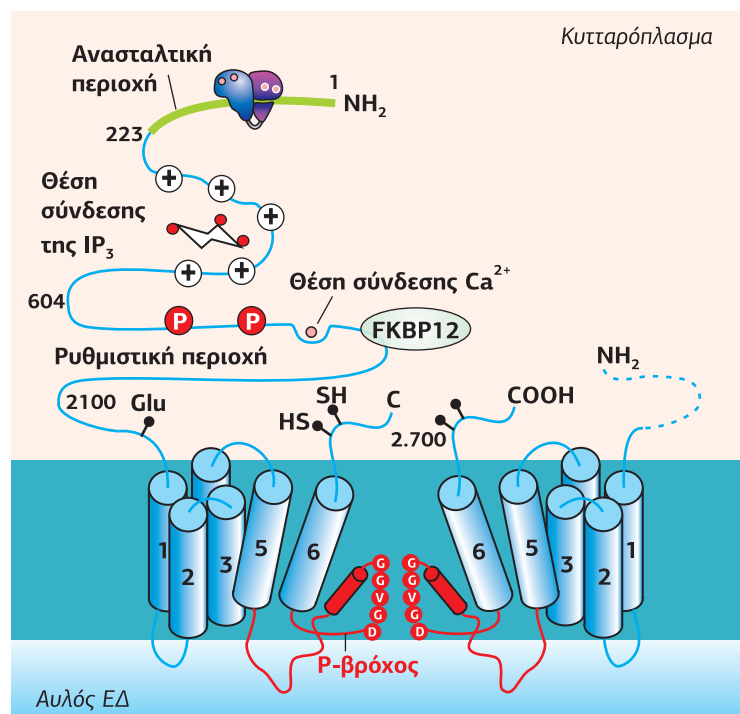
Το 1988 απομονώθηκε από την παρεγκεφαλίδα αρουραίων ο υποδοχέας της InsP₃ από τους νευροεπιστήμονες Surachai Supattarone και Solomon Snyder στο Johns Hopkins University, School of Medicine. Οι υποδοχείς InsP₃ αποτελούν ένα επιπλέον παράδειγμα ενεργοποίησης καναλιών ιόντων από ενδοκυττάρους δεύτερους διαβιβαστές. Είναι κανάλια Ca²⁺ που βρίσκονται στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού δικτύου, ενεργοποιούνται από την τριφωσφορική ινοσιτόλη (InsP₃ ή IP₃) και ρυθμίζονται από το Ca²⁺. Με τη σύνδεση της IP₃ ανοίγει το κανάλι και το Ca²⁺ εξέρχεται από το ενδοπλασματικό δίκτυο στο κυτταρόπλασμα. Η εξωκυτταρική συγκέντρωση του Ca²⁺ είναι 1-2 mM, ενώ στο κυτταρόπλασμα είναι μόλις 0,0001 mM, γιατί στο εσωτερικό του κυττάρου το Ca²⁺ βρίσκεται αποθηκευμένο στο ενδοπλασματικό δίκτυο (0,1mM) και στα μιτοχόνδρια.

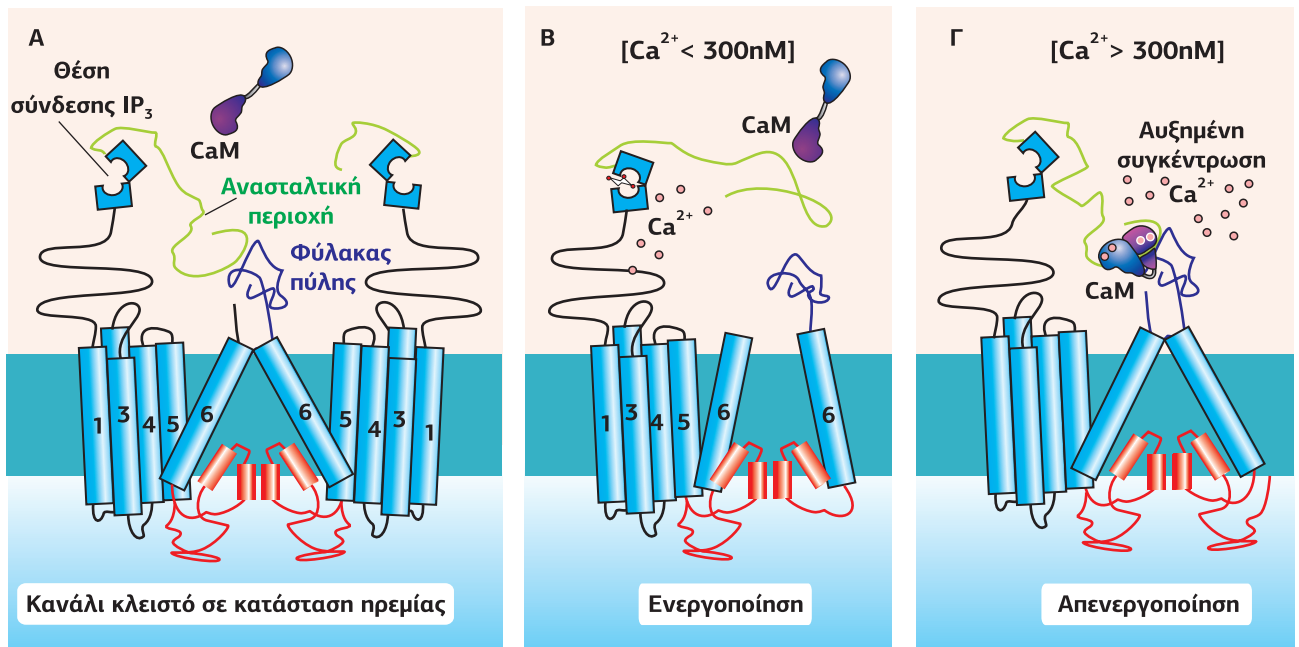
Οι InsP₃Rs μοιράζονται πολλά χαρακτηριστικά με τους στενούς τους συγγενείς, υποδοχείς ρυανοδίνης, οι οποίοι βρίσκονται στη μεμβράνη του σαρκοπλασματικού δικτύου. Οι InsP₃Rs δεν περιορίζονται απαραίτητα στο ΕΔ, διαμεσολαβούν και στην απελευθέρωση Ca²⁺ από άλλα ενδοκυτταρικά οργανίδια, όπως ο πυρηνικός φάκελος, η συσκευή Golgi και τα εκκριτικά κυστίδια.

Δομή του υποδοχέα IP₃

Οι IP₃Rs αποτελούνται από τέσσερις μεγάλες πρωτεϊνικές υπομονάδες. Η κάθε υπομονάδα (περίπου 2.700 κατάλοιπα) αποτελείται από έξι διαμεμβρανικές περιοχές (S1-S6), τον χαρακτηριστικό P-βρόχο εξειδίκευσης ανάμεσα στις S5-S6 και το NH₂- και COOH-τελικό άκρο προς την πλευρά του κυτταροπλάσματος. Το NH₂-τελικό άκρο είναι πολύ μεγάλο και περιέχει α. μία ανασταλτική περιοχή (Suppressor Domain, SD) από 1 έως 223 αα, στην οποία βρίσκεται η θέση σύνδεσης της καλμοδουλίνης, β. μια περιοχή από 224 έως 604 αα, με δομή σαν όστρακο μαλακίου, όπου συνδέεται η IP₃, και γ. μια ρυθμιστική περιοχή, η οποία περιέχει θέσεις φωσφορυλίωσης, μια θέση σύνδεσης του Ca²⁺ και μια περιοχή, όπου συνδέεται η FKBP12 (FK506 Binding Protein) (Εικόνα 4.39). Συνολικά, ο κάθε IP₃R περιέχει 4 θέσεις σύνδεσης IP₃.

Εικόνα 4.39
Δύο από τις 4 υπομονάδες του καναλιού-υποδοχέα IP₃. Διακρίνονται α. οι έξι διαμεμβρανικές περιοχές τους (S1-S6), β. ο P-βρόχος ανάμεσα στην S5 και την S6 α-έλικα, υπεύθυνος για τη δημιουργία του φίλτρου εξειδίκευσης, γ. το μεγάλο NH₂-τελικό άκρο με την ανασταλτική περιοχή (που περιέχει μια θέση σύνδεσης για την καλμοδουλίνη CaM), την περιοχή σύνδεσης της IP₃ και τη ρυθμιστική περιοχή (που περιέχει θέσεις φωσφορυλίωσης, μια θέση σύνδεσης για το Ca²⁺ και μία για την FKBP) και τέλος δ. το κοντό COOH-τελικό άκρο. [13]





Η κυτταροπλασματική περιοχή ανάμεσα στην περιοχή σύνδεσης της IP_3 και στην S1 διαμεμβρανική α -έλικα έχει χαρακτηριστεί ως ρυθμιστική, γιατί δέχεται πολλά σήματα που ρυθμίζουν τη λειτουργία του καναλιού. Χαρακτηριστικό γνώρισμα όλων των IP_3 Rs είναι η διπλή ρύθμισή τους από την IP_3 και από το Ca^{2+} . Η σύνδεση της IP_3 στο NH_2 -τελικό άκρο της κάθε υπομονάδας του IP_3 R αλλάζει τη διαμόρφωση αποκαλύπτοντας τη θέση πρόσδεσης του Ca^{2+} . Η δέσμευση IP_3 και Ca^{2+} αποσταθεροποιεί την ανασταλτική αλληλεπίδραση ανάμεσα σε αμινοξέα της ανασταλτικής περιοχής (suppressor domain) του NH_2 -τελικού άκρου και σε μια αλληλουχία “φύλακα της πύλης” (gatekeeper) του κοντού $COOH$ -τελικού κυτταροπλασματικού άκρου της γειτονικής υπομονάδας, επιτρέποντας το άνοιγμα της πύλης. Όταν η συγκέντρωση Ca^{2+} είναι αυξημένη, το Ca^{2+} συνδέεται στην καλμοδουλίνη (η οποία αλλάζει διαμόρφωση και συνδέεται στην ανασταλτική περιοχή) και κλειδώνει τον υποδοχέα σε μια κλειστή κατάσταση, φέρνοντας κοντά την ανασταλτική περιοχή με τον φύλακα της πύλης (Εικόνα 4.40).

Ουσιαστικά, οι υποδοχείς IP_3 και ρυανοδίνης δεν είναι μόνο εξειδικευμένα κανάλια Ca^{2+} αλλά και αισθητήρες Ca^{2+} . Στην πραγματικότητα η διαπερατότητά τους σε ιόντα Ca^{2+} ρυθμίζεται σύμφωνα με έναν διφασικό μηχανισμό: τα κανάλια ανοίγουν όταν η κυτταροπλασματική συγκέντρωση Ca^{2+} είναι κάτω από 300 nM (θετική ανατροφοδότηση) και κλείνουν όταν είναι πάνω από 300 nM (αρνητική ανατροφοδότηση). Η ρύθμιση του ανοίγματος πύλης από το Ca^{2+} είναι γνωστή ως Ca^{2+} -επαγόμενη απελευθέρωση Ca^{2+} .

Υποδοχείς ρυανοδίνης

Οι υποδοχείς ρυανοδίνης (RyRs) ανακαλύφθηκαν ως πρωτεΐνες με θέσεις πρόσδεσης για το αλκαλοειδές ρυανοδίνη, το οποίο προέρχεται από το φυτό της Ν. Αμερικής *Ryania speciosa*, γνωστό για την εντομοκτόνο δράση του. Σε συγκεντρώσεις nM η ρυανοδίνη “κλειδώνει” τον υποδοχέα σε μια μισάνοικτη κατάσταση, προκαλώντας την αύξηση της κυτταροπλασματικής συγκέντρωσης Ca^{2+} , η οποία με τη σειρά της επάγει Ca^{2+} -επαγόμενη απελευθέρωση Ca^{2+} από το σαρκοπλασματικό δίκτυο, με συνέπεια τη μαζική μυϊκή σύσπαση και σπασμούς. Σε συγκεντρώσεις mM η ρυανοδίνη κλείνει τελείως το κανάλι οδηγώντας σε παράλυση.

Στα θηλαστικά έχουν βρεθεί έως σήμερα τρεις διαφορετικές ισομορφές των υποδοχέων ρυανοδίνης (RyR1–3). Ο υποδοχέας RyR1 είναι ο πρώτος που κλωνοποιήθηκε και εκφράζεται κυρίως στους σκελετικούς μύς, ο RyR2 στην καρδιά

Εικόνα 4.40

Ένα μοντέλο της ενεργοποίησης του καναλιού-υποδοχέα $InsP_3$. Α. Διακρίνονται δύο από τις 4 υπομονάδες του καναλιού. Η ανασταλτική περιοχή του NH_2 -τελικού άκρου της 1ης υπομονάδας είναι συνδεδεμένη με τον φύλακα της πύλης του $COOH$ -τελικού άκρου της 2ης υπομονάδας, κρατώντας το κανάλι κλειστό. Β. Η σύνδεση της IP_3 κλείνει την σαν όστρακο δομή του NH_2 -τελικού άκρου, αποκαλύπτοντας τη θέση πρόσδεσης για το Ca^{2+} . Η σύνδεση IP_3 και Ca^{2+} αποσταθεροποιεί την αλληλεπίδραση ανάμεσα στην ανασταλτική περιοχή και τον φύλακα της πύλης και η πύλη ανοίγει. Γ. Όταν η συγκέντρωση Ca^{2+} είναι αυξημένη, το Ca^{2+} συνδέεται στην καλμοδουλίνη (η οποία συνδέεται στην ανασταλτική περιοχή) και κλειδώνει τον υποδοχέα σε μια κλειστή κατάσταση, φέρνοντας κοντά την ανασταλτική περιοχή με τον φύλακα της πύλης. [94]

Εικόνα 4.41

Υποδοχέας της ρυανοδίνης.

A. Η δομή μιας υπομονάδας του υποδοχέα της ρυανοδίνης. Διακρίνονται οι έξι διαμεμβρανικές περιοχές (S1-S6), ο P-βρόχος (ανάμεσα στην S5 και S6 διαμεμβρανική περιοχή), προς την πλευρά του ΣΔ, το τεράστιο NH₂-τελικό κυτταροπλασματικό άκρο με θέσεις σύνδεσης για τις φωσφατάσες PP1c (μέσω της σπινοφιλίνης), PP2A (μέσω της PR130), την PKA (μέσω της AKAP), την καλμοδουλίνη και την FKBP. Στον αυλό του ΣΔ το κανάλι συνδέεται με την καλσεκεστρίνη, πρωτεΐνη με υψηλή ικανότητα πρόσδεσης Ca²⁺, η οποία αλληλεπιδρά ταυτόχρονα με τις πρωτεΐνες junctin και την triadin. Το σύμπλεγμα καλσεκεστρίνη/triadin/junctin ρυθμίζει τη διαπερατότητα του καναλιού ανάλογα με τη συγκέντρωση Ca²⁺ στο εσωτερικό του σαρκοπλασματικού δικτύου.

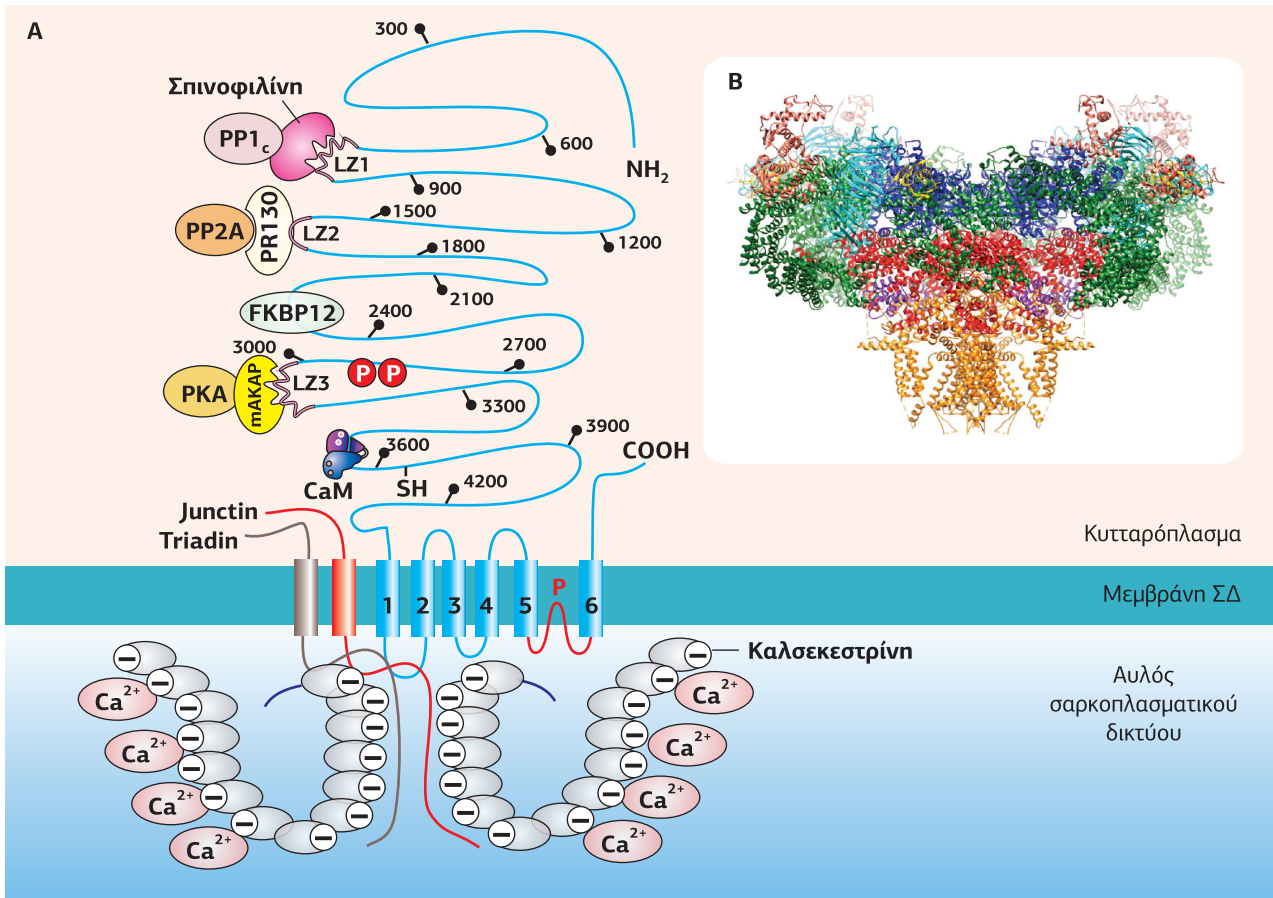
B. Η κρυσταλλική δομή του υποδοχέα ρυανοδίνης.

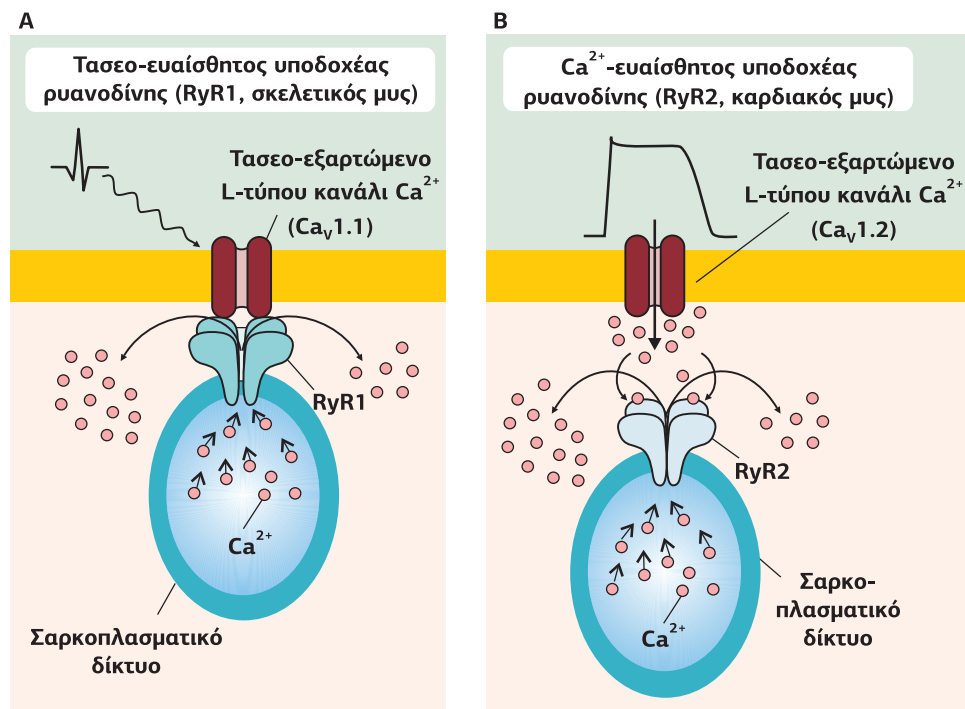
και ο RyR3 στον εγκέφαλο, ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις συναντώνται και σε άλλους κυτταρικούς τύπους (εξωκρινή, επιθηλιακά κύτταρα κ.λπ.). Είναι υπεύθυνοι για την απελευθέρωση Ca²⁺ από το ενδοπλασματικό και σαρκοπλασματικό δίκτυο, μέσω της οποίας ελέγχουν πολλές Ca²⁺-εξαρτώμενες διαδικασίες του κυττάρου. Είναι κυρίως γνωστοί για τη συμμετοχή τους στη σύνδεση διέγερσης-σύσπασης μέσω απελευθέρωσης Ca²⁺ από το σαρκοπλασματικό δίκτυο.

Δομή των υποδοχών ρυανοδίνης

Οι RyRs είναι ετεροτετραμερή συμπλέγματα που αποτελούν το μεγαλύτερο γνωστό έως σήμερα κανάλι ιόντων, περίπου 2,2 MDa, με το κάθε μονομερές να αποτελείται από 5.000 αμινοξέα. Το κάθε μονομερές αποτελείται από έξι διαμεμβρανικές περιοχές (S1-S6), τον χαρακτηριστικό P-βρόχο ανάμεσα στην S5 και την S6 περιοχή, καθώς και ένα τεράστιο NH₂-τελικό άκρο, που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα και αποτελεί το 80% του καναλιού. Το NH₂-άκρο περιέχει θέσεις σύνδεσης για τις πρωτεϊνικές φωσφατάσες PP1 (οι οποίες συνδέονται μέσω της πρωτεΐνης σπινοφιλίνης) και PP2A, για την κινάση PKA (η οποία συνδέεται μέσω μιας mAΚAP, A-Kinase Anchoring Protein), για την καλμοδουλίνη και την FKBP (FK506 Binding Protein), η σύνδεση της οποίας έχει αρνητικό αποτέλεσμα στη λειτουργία του καναλιού. Το τεράστιο NH₂-άκρο με τις ποικίλες θέσεις πρόσδεσης επιτρέπει τη λεπτή, αρνητική ή θετική, ρύθμιση του καναλιού από έναν μεγάλο αριθμό πρωτεϊνών, μικρών μορίων αλλά και μετα-μεταγραφικών τροποποιήσεων (Εικόνα 4.41).

Οι υποδοχείς RyR, όταν η συγκέντρωση του Ca²⁺ μέσα στο ΣΔ είναι χαμηλή (1 mM), συνδέονται μέσω των διαμεμβρανικών πρωτεϊνών του ΣΔ junctin και triadin με την ανασταλτική Ca²⁺-buffering πρωτεΐνη καλσεκεστρίνη (calsequestrin), και παραμένουν κλειστά. Όταν η συγκέντρωση Ca²⁺ αυξηθεί (10 mM) η καλσεκεστρίνη απομακρύνεται και τα κανάλια ανοίγουν.





Εικόνα 4.42
Δύο τρόποι ενεργοποίησης των υποδοχέων της ρυανοδίνης στα σκελετικά και στα καρδιακά μυϊκά κύτταρα. Α. Οι RyR1 που βρίσκονται στους σκελετικούς μυς συνδέονται άμεσα με τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} της πλασματικής μεμβράνης ($Ca_v1.1$). Η εκπόλωση του κυττάρου μεταφέρεται μέσω του $Ca_v1.1$ στον RyR1, ο οποίος αλλάζει διαμόρφωση και ανοίγει. Β. Οι RyR2 βρίσκονται στους καρδιακούς μυς και ανοίγουν έπειτα από σύνδεση των ιόντων Ca^{2+} , όταν η συγκέντρωσή τους έχει αυξηθεί στο κυτταρόπλασμα.

Ρύθμιση των υποδοχέων ρυανοδίνης

Ο κύριος επαγωγέας του ανοίγματος των καναλιών RyRs είναι το Ca^{2+} . Στα καρδιακά μυϊκά κύτταρα η εκπόλωση της πλασματικής μεμβράνης οδηγεί στο άνοιγμα των τασσο-εξαρτώμενων L-τύπου καναλιών Ca^{2+} , $Ca_v1.2$, με αποτέλεσμα την είσοδο Ca^{2+} από τον εξωκυτταρικό χώρο. Στη συνέχεια, το Ca^{2+} συνδέεται απευθείας ή μέσω της καλμοδουλίνης στην NH_2 -τελική περιοχή κάθε υπομονάδας του καναλιού **RyR2**, το οποίο εκφράζεται στα καρδιακά κύτταρα, ανοίγει το κανάλι και απελευθερώνεται Ca^{2+} από το ΣΔ στο κυτταρόπλασμα. Κάτω από αυτές τις συνθήκες ο υποδοχέας RyR2 δρα ως ενισχυτής σήματος και η διαδικασία είναι γνωστή Ca^{2+} -επαγόμενη απελευθέρωση Ca^{2+} . Ωστόσο, όσο τα επίπεδα Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα αυξάνονται, το Ca^{2+} προκαλεί το κλείσιμο του καναλιού RyR2. Αυτό σημαίνει ότι υπάρχουν πολλές θέσεις σύνδεσης για το Ca^{2+} με διαφορετικές συγγένειες και διαφορετικές κινητικές σύνδεσης (**Εικόνα 4.42B**).

Παρότι το Ca^{2+} είναι ο κύριος προσδέτης που επάγει το άνοιγμα των καναλιών, δεν είναι απαραίτητο σε όλους τους τύπους των υποδοχέων της ρυανοδίνης. Στην περίπτωση του RyR1, ο οποίος εκφράζεται στους σκελετικούς μυς, υπάρχει μια φυσική σύνδεση ανάμεσα στο τασσο-εξαρτώμενο L-τύπου κανάλι Ca^{2+} , $Ca_v1.1$ της πλασματικής μεμβράνης των T-σωληναρίων και του RyR1. Ο ενδοκυτταρικός βρόχος του $Ca_v1.1$, που συνδέει τις υπομονάδες II και III (II-III linker), αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα RyR1 (**Εικόνα 4.43**). Η αλλαγή του δυναμικού της πλασματικής μεμβράνης προκαλεί αλλαγή διαμόρφωσης στο κανάλι $Ca_v1.1$, η οποία συνεπιφέρει το άνοιγμα του RyR1, χωρίς να απαιτείται η σύνδεση του Ca^{2+} (βλ. **Εικόνα 4.42A**).

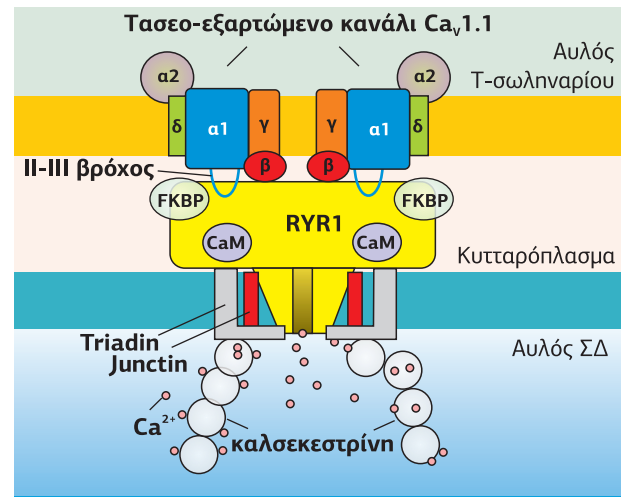
Και στις δύο περιπτώσεις (σκελετικά ή καρδιακά μυϊκά κύτταρα), μετά τη σύσπασση που προκαλείται από την αύξηση του Ca^{2+} , επέρχεται χάλαση λόγω της άντλησης του Ca^{2+} πίσω στο ΣΔ, από την Ca^{2+} -ATPάση SERCA (Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} ATPase).

Η πρωτεΐνη Homer 1c είναι μια πρωτεΐνη προσαρμογής που μπορεί να ενεργοποιήσει το κανάλι RyR1 και να αναστείλει το RyR2. Επιπλέον, ρυθμιστικά μόρια που συνδέονται και επηρεάζουν τη δράση των RyRs είναι το Mg^{2+} (αναστολή), το ATP (ενεργοποίηση), τοξίνες, η καφεΐνη και τα αναισθητικά. Οι υποδοχείς RyRs είναι, επίσης, ευαίσθητοι σε συνθήκες οξειδοαναγωγής, μπορούν να ενεργοποιηθούν, για παράδειγμα, έπειτα από S-νιτροσουλίωση, όταν η συγκέντρωση του NO αυξηθεί σημαντικά (βλ. **Εικόνα 1.18**).

Στην περίπτωση των RyR1 οι μισές από τις 101 κυστεΐνες ανά υπομονάδα βρίσκονται σε ανημένη κατάσταση (free thiol) και η οξειδωσή τους είναι αναμενόμενη.

Εικόνα 4.43

Άμεση σύνδεση του τασο-εξαρτώμενου L-τύπου καναλιού $Ca_v1.1$, το οποίο συναντάται στον σκελετικό μυ με τον υποδοχέα της ρυανοδίνης RyR1. Στον μεγάλο ενδοκυτταρικό βρόχο, που ενώνει τις υποπεριοχές II και III της $\alpha 1$ υπομονάδας του καναλιού $Ca_v1.1$, υπάρχει θέση σύνδεσης με το μεγάλο NH_2 -τελικό άκρο του υποδοχέα ρυανοδίνης (RyR1). Στη σύνδεση συμμετέχει και η β -υπομονάδα του $Ca_v1.1$.



3.7

Κανάλια TRP, παροδικού δυναμικού που ελέγχονται από υποδοχείς

Ο όρος παροδικό δυναμικό που ελέγχεται από υποδοχείς (Transient Receptor Potential) αναφέρεται σε έναν τύπο καναλιού που ανακαλύφθηκε στη *Drosophila* και συμμετέχει στη φωτομεταγωγή στα έντομα. Στη συνέχεια, η οικογένεια καναλιών TRP αποδείχθηκε αρκετά μεγάλη, με 28 γονίδια στον άνθρωπο. Τα TRP είναι κανάλια κατιόντων, όλα ευαίσθητα στη θερμοκρασία (σε διαφορετικό εύρος ο κάθε τύπος) και στη μηχανική πίεση. Ορισμένα είναι μη εξειδικευμένα, ενώ άλλα έχουν ισχυρή προτίμηση για τα ιόντα Ca^{2+} . Τα TRP ταξινομούνται σε 6 υποοικογένειες:

1. **TRPC (Canonical)**. Περιλαμβάνει 7 υπότυπους (TRPC1-7), με ευρεία κατανομή.
2. **TRPV (Vanilloids)**. Περιλαμβάνει 6 υποτύπους (TRPV1-6), δρουν ως θερμοϋποδοχείς, μηχανοϋποδοχείς, αλλά ενεργοποιούνται και από πρωτόνια και μια μεγάλη ποικιλία χημικών ουσιών, όπως τα βανιλλοειδή, μεταξύ των οποίων το ομοβανιλλικό οξύ, η καψαϊκίνη (καυτερό συστατικό στο κόκκινο πιπέρι) κ.λπ.
3. **TRPM (Melastatin)**. Περιλαμβάνει 8 υποτύπους (TRPM1-8). Το κανάλι TRPM1 ανακαλύφθηκε το 2002 ως μια ογκοκατασταλτική πρωτεΐνη, με το όνομα μελαστατίνη. Καθώς η έκφρασή του είναι αντιστρόφως συνδεδεμένη με την επιθετικότητα του μελανώματος, προτάθηκε ότι καταστέλλει τη

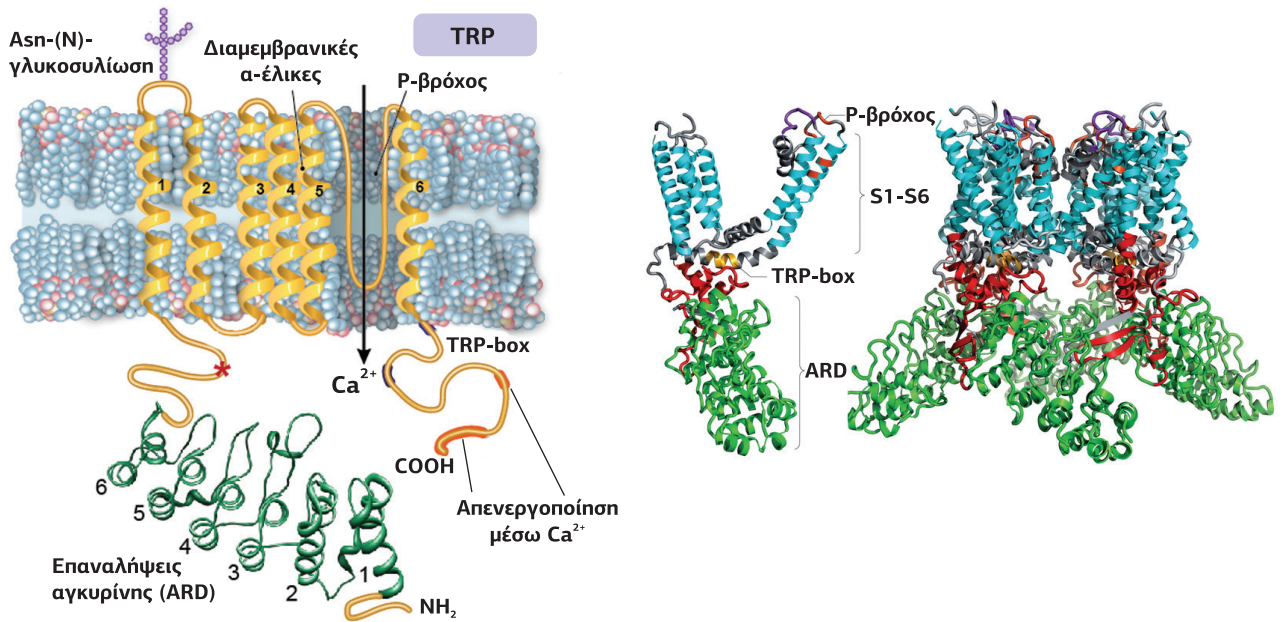
Εικόνα 4.44

A. Γενική δομή μιας υπομονάδας των καναλιών TRPs. Τα TRPs δημιουργούνται από 4 υπομονάδες, καθεμία από τις οποίες αποτελείται από έξι διαμεμβρανικές α -έλικες και, ανάμεσα στις S5-S6 περιοχές, έναν P-βρόχο, ο οποίος είναι υπεύθυνος για τη δημιουργία του πόρου του καναλιού. Το NH_2 -τελικό και το $COOH$ -τελικό άκρο βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. Ορισμένα κανάλια TRP έχουν στο NH_2 -τελικό τους άκρο επαναλήψεις αγκυρίνης. Ο ενδοκυτταρικός βρόχος, ανάμεσα στην S4 και S5 περιοχή, είναι θέση όπου αλληλεπιδρούν ενδογενείς λιπιδικοί ρυθμιστές ή λιπόφιλοι φαρμακολογικοί παράγοντες (π.χ. καψαϊκίνη). Τα φωσφολιπίδια της μεμβράνης PIP_2 αλληλεπιδρούν με το $COOH$ -τελικό άκρο ορισμένων TRP καναλιών, κοντά στην TRP περιοχή.

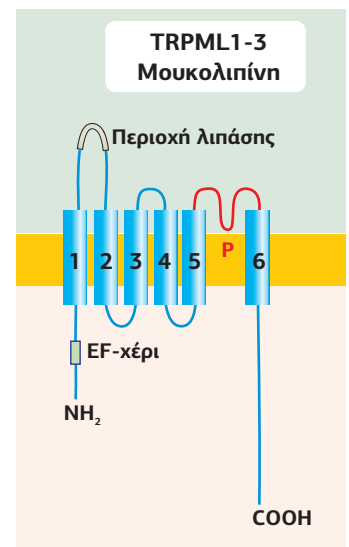
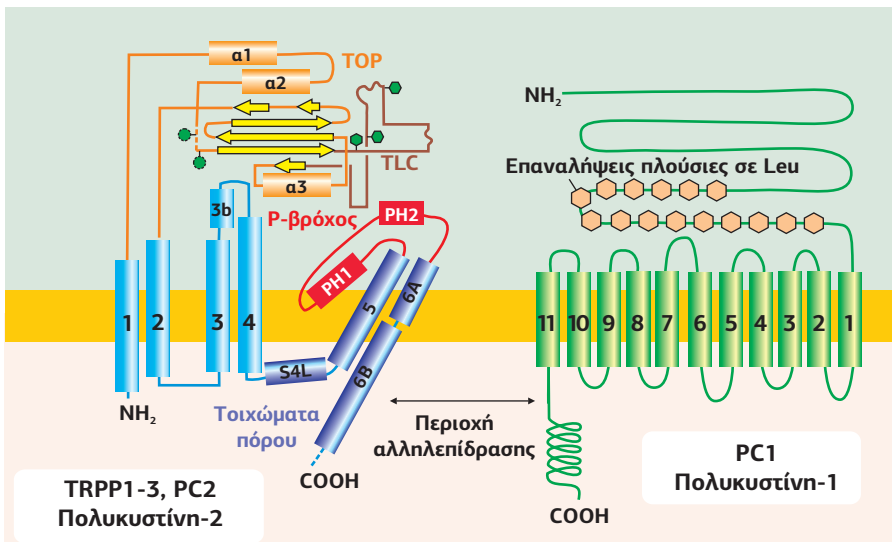
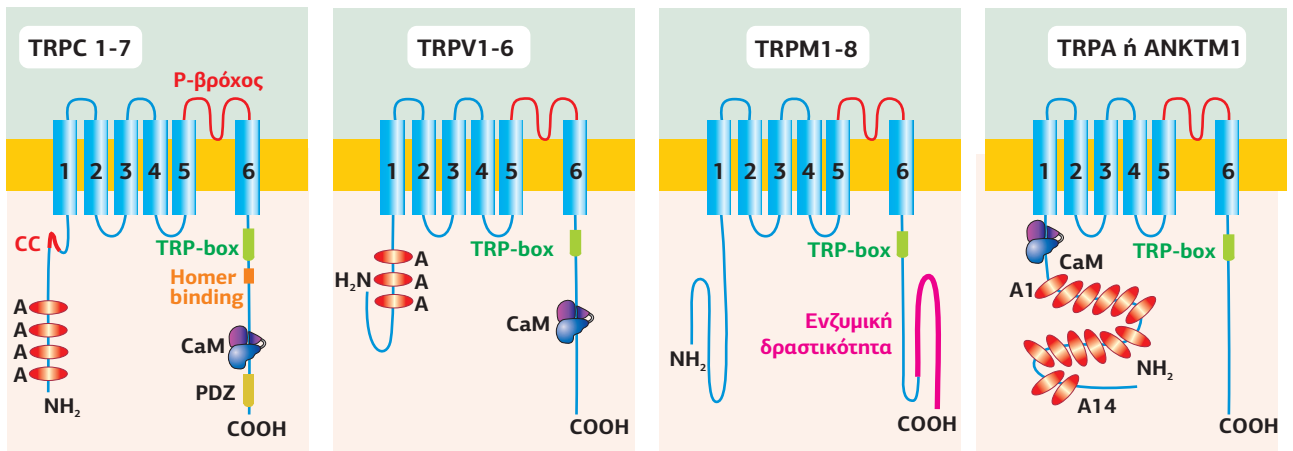
[108] Η κρυσταλλική δομή της μιας υπομονάδας αλλά και ολόκληρου του καναλιού TRP διακρίνεται δεξιά. [102]

B. Τα κανάλια TRPC, TRPV και TRPA περιέχουν 4, 3 και 14 επαναλήψεις αγκυρίνης στο NH_2 -τελικό τους άκρο, αντίστοιχα. Τα κανάλια TRPM χαρακτηρίζονται από πολύ μακριές NH_2 - και $COOH$ -τελικές περιοχές, ενώ σε ορισμένους υπότυπους το $COOH$ -τελικό άκρο περιέχει ενζυμική δραστηριότητα, όπως το TRPM7 που έχει δραστηριότητα πρωτεϊνικής α-κινάσης (βλ. σελ. 442). Το κανάλι πολυκυστίνη-2 (TRPP1-3, PC2, PKD2) είναι ομοτετραμερές. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από έναν μεγάλο εξωκυτταρικό βρόχο (TOP domain, Tetragonal opening for polycystins), έξι διαμεμβρανικές περιοχές, από τις οποίες, η TM4 έχει ασθενές θετικό φορτίο, καθιστώντας το κανάλι τασο-εξαρτώμενο, και οι TM5/TM6 δημιουργούν τον P-βρόχο που σχηματίζει τον πόρο του καναλιού. Η PC1 περιέχει ένα μεγάλο NH_2 -τελικό άκρο, το οποίο εμφανίζει ποικίλες θέσεις αλληλεπίδρασης με πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας, δρώντας ως υποδοχέας που προσλαμβάνει εξωκυτταρικά μηνύματα. [100]

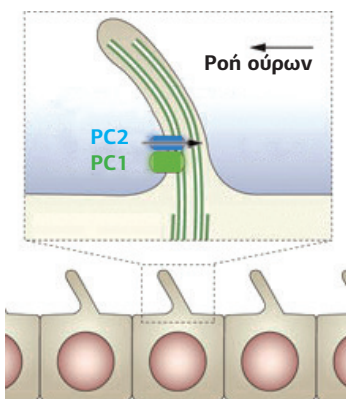
A



B



Η ασθένεια των πολυκυστικών νεφρών είναι μια κληρονομική διαταραχή που προσβάλλει 1:1000 άτομα και χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση πολυάριθμων κύστεων γεμάτων υγρό και στους δύο νεφρούς. Ο σχηματισμός των κύστεων επηρεάζει αρνητικά τη λειτουργία των νεφρών. Οφείλεται σε αρνητικές loss-of-function μεταλλάξεις των PKD1 ή PKD2, οι οποίες ελέγχοντας την ομοιόσταση ασβεστίου στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρών δρουν ως ρυθμιστές της ανάπτυξης και της μορφογένεσης των νεφρών.



μετάσταση του μελανώματος. Εκφράζεται κυρίως στα μελανοκύτταρα του δέρματος, όπου παίζει ρόλο στη σύνθεση της μελανίνης, και στο μάτι. Το TRPM2 εκφράζεται στον εγκέφαλο και ενεργοποιείται από διουκλεοτίδια της αδενίνης και την ADP-ριβόζη.

4. **TRPP (Polycystins)**. Οι πολυκυστίνες κωδικοποιούνται από τα γονίδια *PKD1* και *PKD2*, αρνητικές μεταλλάξεις των οποίων προκαλούν την ασθένεια των πολυκυστικών νεφρών (Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease, ADPKD), μια πολύ κοινή κληρονομική ασθένεια. Οι PC1 και PC2 βρίσκονται στην πλασματική μεμβράνη των βλεφαρίδων των επιθηλιακών κυττάρων των νεφρών, όπου δημιουργούν ένα σύμπλοκο που δρα ως μηχανο-ευαίσθητο κανάλι Ca^{2+} , με τη πολυκυστίνη-2 να δημιουργεί τον πόρο του καναλιού (κανάλι TRPP) και την πολυκυστίνη-1 (μια γλυκοπρωτεΐνη με μεγάλο NH_2 -τελικό άκρο) να απαιτείται για τη διέγερση του καναλιού.
5. **TRPML (Mucolipin)**. Περιλαμβάνει 3 υπότυπους (TRPML1-3), που βρίσκονται σε ενδοκυτταρικά κυστίδια και όχι στην πλασματική μεμβράνη. Πήραν το όνομά τους από το κανάλι TRPML1 ή μουκολιπίνη, ένα κανάλι Ca^{2+}/Fe^{2+} , το οποίο βρίσκεται στα λυσοσώματα και στα ενδοσώματα, όπου εμποδίζει την έντονη οξίνιση των οργανιδίων αυτών. Η μουκολιπίνη παίζει ρόλο στη μεταφορά λιπιδίων και πρωτεϊνών από τα λυσοσώματα στα ενδοσώματα. Είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του εγκεφάλου και του αμφιβληστροειδούς. Μετάλλαξη του TRPML1 προκαλεί μουκολιπιδίωση τύπου IV (ML-IV), η οποία οφείλεται στην ταυτόχρονη συσσώρευση λυσοσωμάτων που περιέχουν μεμβρανικά λιπίδια (γαγγλιόσιδια, φωσφολιπίδια), μαζί με υδατοδιαλυτά υλικά (π.χ. γλυκοπρωτεΐνες) σε λυσοσώματα των κυττάρων του κάθε ιστού και οργάνου των ασθενών. Η ασθένεια ML-IV περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1974 ως μια νευροεκφυλιστική ασθένεια, που προκαλεί σοβαρή ψυχοκινητική καθυστέρηση, οφθαλμολογικές ανωμαλίες και έλλειψη σιδήρου.
6. **TRPA ή ANKTM1 (Ankyrin-like Transmembrane protein)**. Η υποοικογένεια αυτή περιλαμβάνει ένα μόνο μέλος, το TRPA1, το οποίο περιέχει 14 NH_2 -τελικές επαναλήψεις αγκυρίνης και δρα ως αισθητήρας της πίεσης και της θερμοκρασίας. Εκφράζεται στο γάγγλιο της ραχιαίας ρίζας, στο τρίδυμο γάγγλιο και στα τριχοκύτταρα. Το TRPA1, επίσης, ενεργοποιείται από ενώσεις ικανές να σχηματίζουν ομοιοπολικούς χημικούς δεσμούς με κυστεΐνες της πρωτεΐνης, όπως ισοθειοκυανικά, τα οποία είναι οι πικάντικες χημικές ουσίες στο λάδι μουστάρδας και στο wasabi.

Δομή των καναλιών TRP

Τα κανάλια TRP ανήκουν στην υπεροικογένεια των καναλιών κατιόντων του πρό-τυπου 1. Συντίθενται από 4 υπομονάδες, καθεμία από τις οποίες περιέχει 6 διαμεμβρανικές α -έλικες (S1-S6) και έναν P-βρόχο ανάμεσα στην S5 και S6 περιοχή. Με εξαίρεση τον αισθητήρα θερμότητας TRPV1, τον αισθητήρα ψυχρού TRPM8 και τον γευστικό υποδοχέα TRPM5, τα κανάλια TRP δεν είναι τασεο-εξαρτώμενα, γιατί το θετικό φορτίο στην S4 διαμεμβρανική περιοχή είναι ανεπαρκές.

Οι διαφορές ανάμεσα στις υποοικογένειες των καναλιών TRP εστιάζονται στο NH_2 - και στο $COOH$ -τελικό άκρο. Τα TRPC, TRPV και TRPA είναι σχεδόν όμοια, καθώς περιέχουν 4, 3 και 14 επαναλήψεις αγκυρίνης, αντίστοιχα. Οι επαναλήψεις αγκυρίνης είναι μοτίβα 33 αμινοξέων υπεύθυνα για ειδικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ πρωτεϊνών, με μια μεγάλη γκάμα πρωτεϊνών-στόχων, μεταξύ των οποίων και πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού. Έχει προταθεί ότι οι επαναλήψεις αγκυρίνης βοηθούν στη συγκρότηση των καναλιών TRP μεσολαβώντας στην αλληλεπίδραση των υπομονάδων τους. Ένα κοινό χαρακτηριστικό των καναλιών TRPC, TRPV, TRPA και TRPM είναι μια περιοχή 6 καλά συντηρημένων αμινοξέων (Glu-Trp-Lys-Phe-Ala-Arg) στο $COOH$ -τελικό άκρο κοντά στη μεμβράνη, που ονομάζεται **TRP box**, και της οποίας ο ρόλος παραμένει άγνωστος (**Εικόνα 4.44**).

Τα κανάλια TRPM χαρακτηρίζονται από πολύ μακριές NH_2 - και $COOH$ -τελικές

περιοχές, ενώ σε ορισμένους υποτύπους τους, το COOH-τελικό άκρο περιέχει ενζυμική δραστηριότητα, π.χ. το κανάλι TRPM2 έχει δραστηριότητα πυροφωσφατάσης της ADP-ριβόζης, ενώ το TRPM7 έχει δραστηριότητα πρωτεϊνικής κινάσης. Χαρακτηριστική δομή και σύνθεση εμφανίζει το κανάλι TRPP, το οποίο εκτός από την πολυκυστίνη-2 που δημιουργεί τον πόρο του καναλιού, το κανάλι συνδέεται μέσω της coiled-coil περιοχής του COOH-τελικού άκρου του με την πολυκυστίνη-1, μια πρωτεΐνη με 11 διαμεμβρανικές περιοχές και ένα μεγάλο εξωκυτταρικό NH₂-τελικό άκρο, το οποίο περιέχει πολλές θέσεις αλληλεπίδρασης με πρωτεΐνες της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας (Εικόνα 4.44B).

Ενεργοποίηση και ρύθμιση των καναλιών TRP

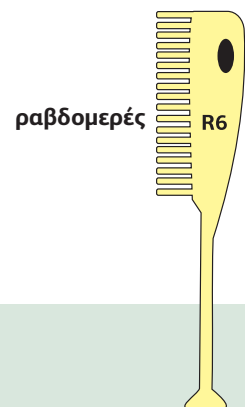
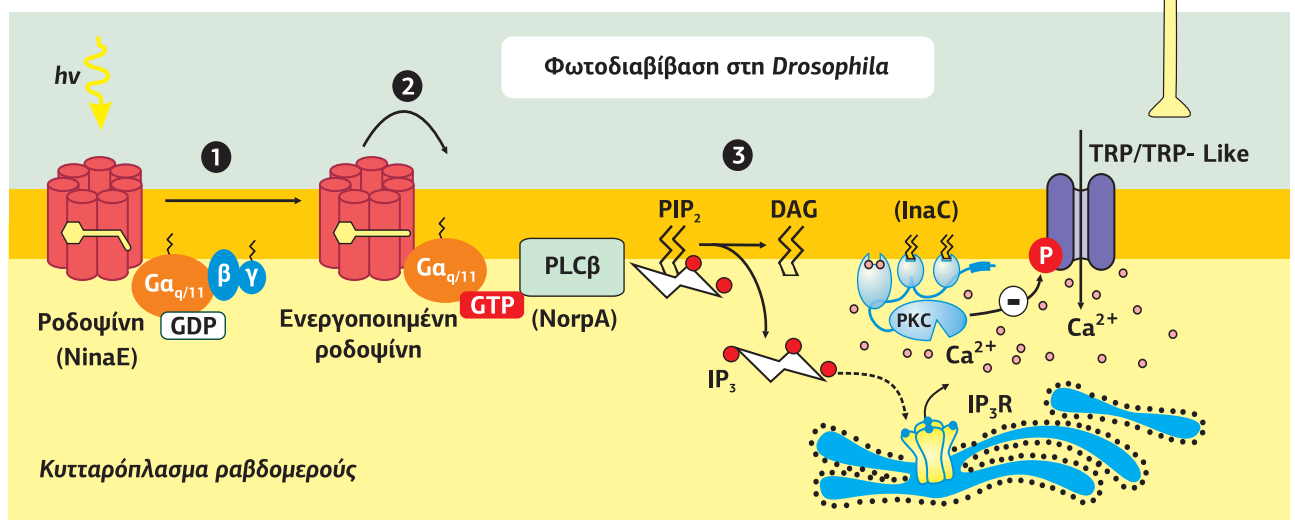
Ο μηχανισμός ενεργοποίησης των TRPs δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητός. Εξαρτάται από τον τύπο του καναλιού και περισσότερο από ένα σηματοδοτικό μονοπάτι οδηγούν στο άνοιγμα του πόρου. Η πλειονότητα των καναλιών TRP ενεργοποιείται από τις φωσφολιπάσες C (PLCβ και γ), με χαρακτηριστικό παράδειγμα τη φωτομεταγωγή στα έντομα. Η φωτοευαίσθητη ροδοψίνη διεγείρει μέσω μιας ετεροτριμερούς Gα_{q/11} πρωτεΐνης, τη φωσφολιπάση C τύπου β (PLCβ), η οποία υδρολύοντας τα PIP₂ της μεμβράνης παράγει διακυλογλυκερόλη (DAG) και τριφωσφορική ινositόλη (IP₃). Η IP₃ ενεργοποιεί τον υποδοχέα IP₃ του ενδοπλασματικού δικτύου, προκαλώντας την έξοδο του Ca²⁺ από το ΕΔ στο κυτταρόπλασμα. Εάν η ενεργοποίηση της PLCβ προκαλεί το άνοιγμα των καναλιών TRP (και TRP-like) μέσω της αύξησης του Ca²⁺ ή μέσω της μείωσης των φωσφοϊνοσιτιδίων της μεμβράνης (PIP₂) δεν είναι ακόμη γνωστό (Εικόνα 4.45). Άλλοι ρυθμιστές των καναλιών TRP είναι τα ιόντα Ca²⁺, η θερμοκρασία, η μηχανική πίεση και επίσης θεωρείται ότι τα TRPC μπορούν να παίξουν τον ρόλο καναλιών που ελέγχονται από αποθήκες Ca²⁺, SOCCs (Store Operated Calcium Channels), αν και ο ρόλος αυτός δεν είναι πλήρως διευκρινισμένος (βλ. σσ. 205-206).

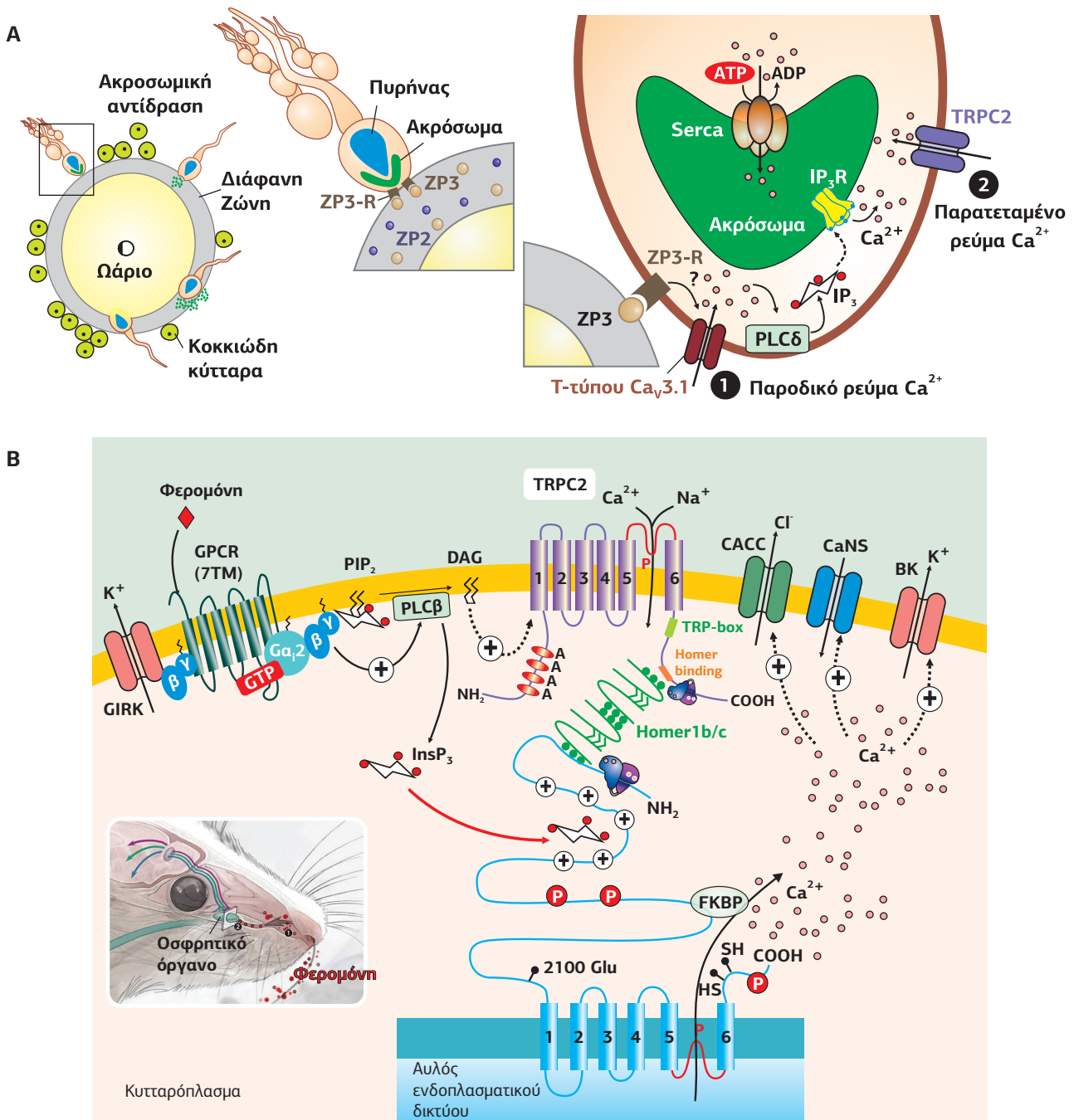
Χαρακτηριστικοί ρόλοι των καναλιών TRP

Ένα κανάλι με ιδιαίτερο ενδιαφέρον είναι το **TRPC2**, το οποίο εκφράζεται στα περισσότερα σπονδυλωτά με εξαίρεση τα πρωτεύοντα (πίθηκος, γορίλας, άνθρωπος), στα οποία το γονίδιο *trpc2* είναι ένα ανενεργό ψευδογονίδιο. Το άνοιγμα των καναλιών TRPC2 επάγει την ακροσωμική αντίδραση, που οδηγεί στην είσοδο του σπερματοζωαρίου στο υπό γονιμοποίηση ωάριο. Η σύνδεση του σπερματοζωαρίου μέσω του υποδοχέα ZP3-R, στην πρωτεΐνη ZP3 της διάφανης ζώνης (Zona Pellucida) του ωαρίου, οδηγεί στην παροδική είσοδο Ca²⁺ στο σπερματοζωάριο από τα T-τύπου κανάλια Ca²⁺ (Transient calcium entry, Low voltage activated channels). Η αύξηση του Ca²⁺ ενεργοποιεί το μονοπάτι της φωσφολιπάσης Cδ, το

Η **ADP-ριβόζη** παράγεται κάτω από συνθήκες οξειδωτικού stress, όπως η αναπνευστική έκρηξη στα κύτταρα του ανοσοποιητικού ή η ισχαιμία στον εγκέφαλο. Συνδέεται στο COOH-τελικό άκρο του TRPM2 με δραστηριότητα ενζύμου που υδρολύει την ADP-R σε AMP και 5-P-ριβόζη.

Εικόνα 4.45
Τα κανάλια TRP στη *Drosophila* συμμετέχουν στη φωτοδιαβίβαση. Η ενεργοποίηση της ροδοψίνης (*NinaE*, *Neither inactivation nor afterpotential E*) από το φως οδηγεί μέσω της Gα_{q/11}-πρωτεΐνης στην ενεργοποίηση της PLCβ (*NorpA*, *No receptor potential A*), η οποία παράγει DAG και IP₃, προκαλώντας αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca²⁺. Η PLCβ είναι απαραίτητη για το άνοιγμα των TRP και TRP-like, με έναν μηχανισμό που δεν είναι ακόμη πλήρως διευκρινισμένος. Τα κανάλια απενεργοποιούνται μετά από φωσφορυλίωση από την κινάση PKC (*InaC*, *Inactivation-no-afterpotential C*). [72]





Εικόνα 4.46

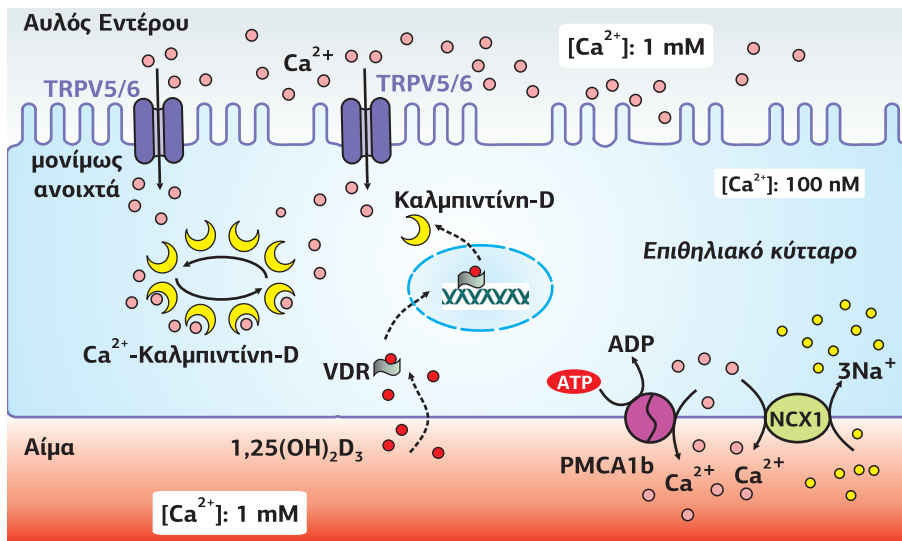
Ρόλος των TRPC2 στα τρωκτικά. Α. Το σπερματοζώαριο πλησιάζει τη διάφανη ζώνη του ωαρίου, συνδέεται μέσω του υποδοχέα ZP3-R στην πρωτεΐνη ZP3 της διάφανης ζώνης και απελευθερώνει λυτικά ένζυμα, ώστε να διαλύσει τη διάφανη ζώνη και να εισέλθει ο πυρήνας του στο ωάριο. Αναλυτικότερα η ενεργοποίηση του ZP3-R οδηγεί στην παροδική είσοδο Ca^{2+} στο σπερματοζώαριο από τα T-τύπου κανάλια Ca^{2+} (με άγνωστο μηχανισμό). Η αύξηση του Ca^{2+} ενεργοποιεί την PLCδ οδηγώντας σε έξοδο Ca^{2+} από το ακρόσωμα. Η PLCδ και η παροδική αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} δρουν συντονισμένα, ώστε να ενεργοποιήσουν μια παρατεταμένη είσοδο Ca^{2+} από τα κανάλια TRPC2, η οποία προκαλεί την απελευθέρωση λυτικών ενζύμων. [30]

Β. Έμμεση ενεργοποίηση των καναλιών TRPC2 από φερομόνες στο οσφρητικό όργανο πολλών σπονδυλωτών. Οι φερομόνες ενεργοποιούν έναν GPCR, ο οποίος μέσω της $G_{\alpha i2}$ -πρωτεΐνης ενεργοποιεί την PLC. Η παραγωγή IP_3 και DAG από την PLCβ οδηγεί στο άνοιγμα των καναλιών TRPC2 με έναν διπλό μηχανισμό: μέσω της DAG και μέσω της δημιουργίας συμπλέγματος IP_3 -R/Homer1b/c/TRPC2. Ο GPCR μέσω των βγ-υπομονάδων ανοίγει τα κανάλια GIRK, από τα οποία εισέρχεται K^+ . Επίσης, το αυξημένο ενδοκυτταρικό Ca^{2+} ενεργοποιεί κανάλια Cl^- CACC, μη ειδικά κανάλια κατιόντων CaNS που επιτείνουν την εκπόλωση του οσφρητικού νευρώνα, και κανάλια BK που επαναφέρουν το δυναμικό στην κατάσταση ηρεμίας. Στην εικόνα διακρίνεται μόνο μια από τις 4 υπομονάδες των καναλιών TRPC2 και του IP_3 R. [68]

οποίο οδηγεί στην αύξηση IP_3 και DAG. Η PLC δ και η παροδική αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} δρουν συντονισμένα ώστε να ενεργοποιήσουν μια παρατεταμένη είσοδο Ca^{2+} από τα κανάλια TRPC2, η οποία προκαλεί την απελευθέρωση λυτικών ενζύμων από το σπερματοζωάριο επιτρέποντάς το να διαλύσει και να διαπεράσει τη διάφανη ζώνη του ωαρίου (**Εικόνα 4.46A**).

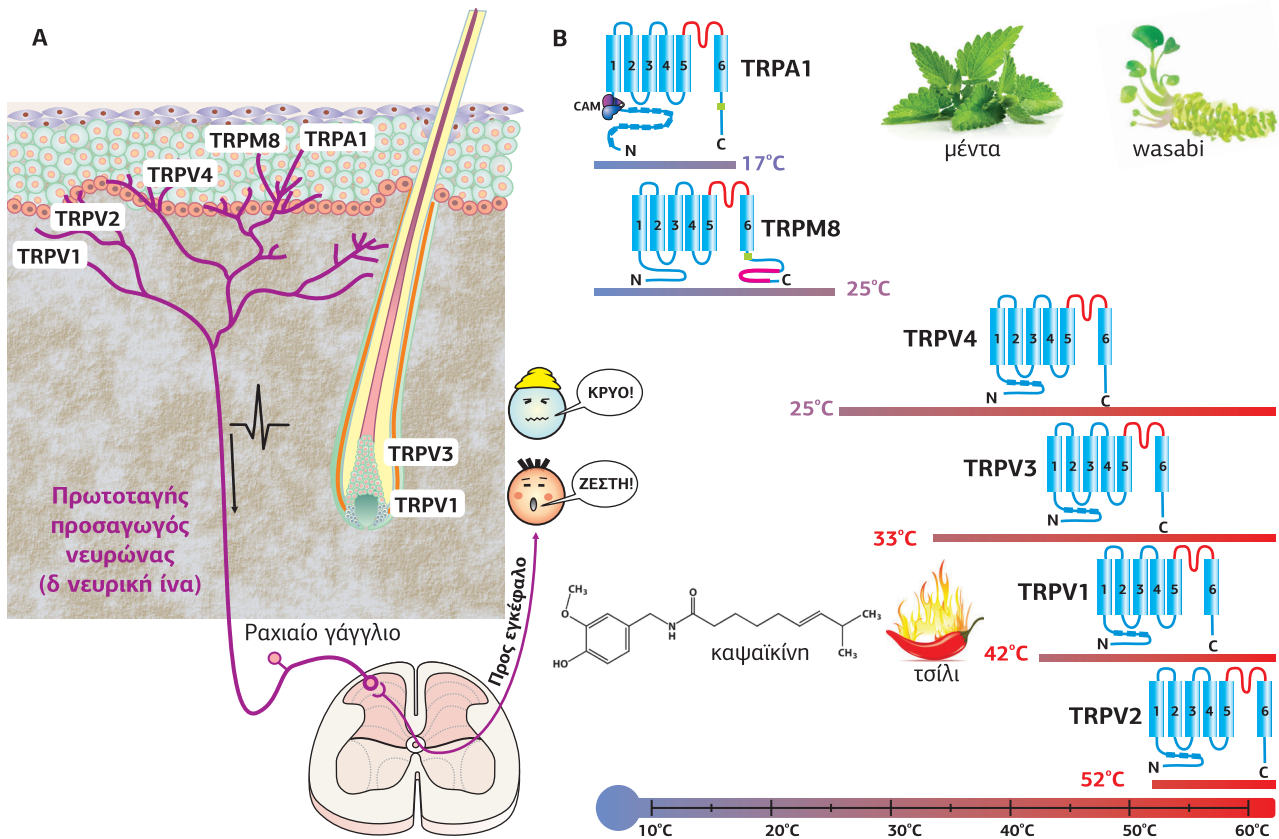
Το TRPC2 εκφράζεται, επίσης, στο οσφρητικό όργανο (vomeronasal organ) πολλών σπονδυλωτών, όπου ενεργοποιείται έμμεσα από φερομόνες. Οι φερομόνες ενεργοποιούν τον υποδοχέα τους (έναν GPCR), ο οποίος μέσω των βγ υπομονάδων της $G_{\alpha 2}$ -πρωτεΐνης ενεργοποιεί την PLC β , η οποία υδρολύει τα φωσφολιπίδια PIP_2 της μεμβράνης σε IP_3 και σε DAG. Η DAG, στη συνέχεια, ενεργοποιεί το άνοιγμα των καναλιών TRPC2. Καθώς τα TRPC2 συνδέονται μέσω της πρωτεΐνης Homer με τους υποδοχείς IP_3 (IP_3R3) του ΕΔ, η ενεργοποίηση των υποδοχέων IP_3 οδηγεί σε παρατεταμένο άνοιγμα των TRPC2. Ο GPCR μέσω των βγ-υπομονάδων ανοίγει και τα κανάλια GIRK, από τα οποία εισέρχεται K^+ λόγω της υψηλής εξωκυτταρικής συγκέντρωσης K^+ στο εξωκυτταρικό χώρο του οσφρητικού βλεννογόνου επιθηλίου. Επίσης, το αυξημένο ενδοκυτταρικό Ca^{2+} ενεργοποιεί α. κανάλια Cl^- CACC (Calcium Activated Chloride Channels), β. κανάλια CaNS (Calcium activated Non-Selective ion channels) που επιτείνουν την εκπόλωση του οσφρητικού νευρώνα ώστε να είναι ευαίσθητος ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις φερομονών, και τέλος γ. κανάλια BK που επαναφέρουν το δυναμικό στην κατάσταση ηρεμίας (**Εικόνα 4.46B**).

Στα σπονδυλωτά τα κανάλια **TRPV5** και **TRPV6**, γνωστά και ως επιθηλιακά κανάλια Ca^{2+} ECaCs (Epithelial Ca^{2+} Channels), εκφράζονται στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρών και του λεπτού εντέρου, προς την πλευρά του αυλού, και εμφανίζουν υψηλή εκλεκτικότητα για το Ca^{2+} . Τα κανάλια αυτά μεσολαβούν στην πρόσληψη του Ca^{2+} που ρυθμίζεται από τη βιταμίνη D. Το Ca^{2+} , που εισέρχεται από τον αυλό του εντέρου ή των νεφρών στα επιθηλιακά κύτταρα μέσω των ECaCs, επιστρέφει στην κυκλοφορία του αίματος από δύο αντλίες Ca^{2+} , μία Ca^{2+} -εξαρτώμενη ΑΤΡάση και τον ανταλλάκτη Na^+/Ca^{2+} NCX1, που βρίσκονται στη βασοπλευρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων. Καθώς τα κανάλια TRPV5 και TRPV6 είναι μονίμως ανοιχτά, για να αποφευχθούν οι αρνητικές παρενέργειες της αυξημένης συγκέντρωσης Ca^{2+} στο κύτταρο, υπάρχει η ρυθμιστική πρωτεΐνη (Ca^{2+} -buffering protein) καλμπιντίνη (calbindin), η οποία παροδικά συνδέει το Ca^{2+} , έως την απομάκρυνσή του από τις αντλίες. Τα γονίδια που κωδικοποιούν τα κανάλια TRPV5, TRPV6 και την καλμπιντίνη βρίσκονται κάτω από τον έλεγχο της βιταμίνης D (**Εικόνα 4.47**). Η βιταμίνη D συνδέεται στον υποδοχέα της VDR (Vitamin D Receptor), έναν μεταγραφικό παράγοντα που εισέρχεται στον πυρήνα και ενεργοποιεί τη μεταγραφή των συγκεκριμένων γονιδίων, ελέγχοντας με αυτόν τον τρόπο τη μεταφορά του Ca^{2+} στο αίμα, απαραίτητη για τον σχηματισμό των οστών.



Εικόνα 4.47

Τα κανάλια TRPV5 και TRPV6 βρίσκονται στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και καθώς είναι μονίμως ανοιχτά οδηγούν στην είσοδο του Ca^{2+} (που προέρχεται από τις τροφές) από τον αυλό του εντέρου στα επιθηλιακά κύτταρα. Το Ca^{2+} μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα συνδέεται παροδικά στη ρυθμιστική πρωτεΐνη καλμπιντίνη. Στη συνέχεια, απομακρύνεται από τα κύτταρα και εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος με τη βοήθεια της Ca^{2+} -ΑΤΡάσης (PMCA1b) και του ανταλλάκτη $3Na^+/Ca^{2+}$ (NCX1). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τα TRPV5, TRPV6 και την καλμπιντίνη ελέγχονται από τον δραστήριο καταβολίτη της βιταμίνης D_3 ($1,25(OH)_2D_3$). [45]



Εικόνα 4.48

Ανίχνευση της μεταβολής της θερμοκρασίας από τα κανάλια TRP.

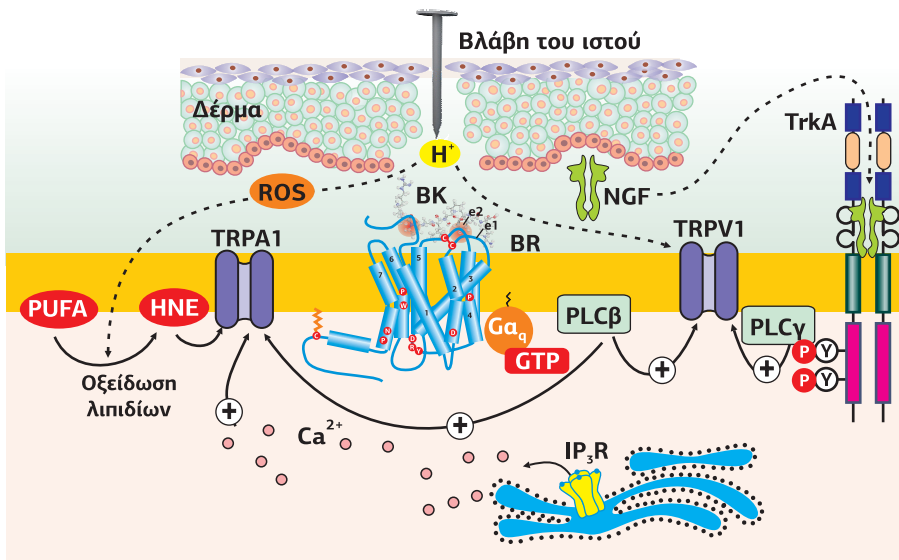
A. Τα κανάλια TRPV, TRPA και TRPM, τα οποία παίζουν τον ρόλο θερμοϋποδοχέων, που αποκρίνονται σε θερμές ή ψυχρές θερμοκρασίες βρίσκονται στις απολήξεις των αισθητήριων νευρώνων του δέρματος (δ νευρικές ίνες) καθώς και στη βάση των τριχών. Τα σώματα των νευρώνων αυτών βρίσκονται στα γάγγλια της ραχιαίας ρίζας και μεταφέρουν το μήνυμα στον εγκέφαλο. [76] **B.** Τα κανάλια TRPA1 και TRPM8 ανιχνεύουν το ψυχρό και ενεργοποιούνται από ουσίες που περιέχουν μέντα και wasabi, ενώ τα TRPV1-4 το θερμό, και ενεργοποιούνται από φυσικές "θερμές" ουσίες (π.χ. καψαϊκίνη που βρίσκεται στο τσίλι), οι οποίες προκαλούν, μέσω της αλλαγής διαμόρφωσης του καναλιού, μια ψευδή εντύπωση θερμοκρασίας.

Το περιφερικό νευρικό σύστημα είναι υπεύθυνο για την ανίχνευση ενός μεγάλου εύρους διαφορετικών αισθήσεων, όπως αφή, πόνος και θερμοκρασία. Οι αισθητήριοι νευρώνες των γαγγλίων της ραχιαίας ρίζας (DRG, Dorsal Root Ganglion) είναι ο κύριος τύπος νευρώνων που ανιχνεύουν αυτές τις αισθήσεις. Τα σώματα των νευρώνων αυτών βρίσκονται στα γάγγλια DRG, ενώ οι αισθητήριες απολήξεις τους στο δέρμα. Τα κανάλια **TRPV**, **TRPA** και **TRPM**, τα οποία παίζουν τον ρόλο θερμοϋποδοχέων, οι οποίοι αποκρίνονται σε θερμές ή ψυχρές θερμοκρασίες βρίσκονται στις απολήξεις των αισθητήριων νευρώνων του δέρματος και της γλώσσας. Τα κανάλια TRPA1 και TRPM8 ανιχνεύουν το ψυχρό, ενώ τα TRPV1-4 το θερμό. Αν και είναι γνωστό ότι τα κανάλια αυτά ανοίγουν με τη μεταβολή της θερμοκρασίας, ο ακριβής μηχανισμός δεν είναι γνωστός. Η είσοδος Ca^{2+} από τα TRP εκπολώνει τους αισθητήριοις νευρώνες και η πληροφορία μεταφέρεται στον εγκέφαλο.

Πιο συγκεκριμένα, το κανάλι TRPV1, το οποίο ενεργοποιείται και από την καψαϊκίνη, αποκρίνεται σε θερμοκρασίες κάτω από 43°C (η θερμοκρασία που αποτελεί το όριο του πόνου στον άνθρωπο), το TRPV2 ενεργοποιείται σε θερμοκρασίες πάνω από 52°C, το TRPV3 σε θερμοκρασίες από 34-40°C (γνωστό και ως υποδοχέας καμφοράς), ενώ το TRPV4 σε θερμοκρασίες από 27-40°C. Αντιθέτως, τα κανάλια TRPA1 και TRPM8 ενεργοποιούνται από ουσίες που προκαλούν ψύξη, όπως η μεντόλη και ο ευκάλυπτος (**Εικόνα 4.48**). Οι ουσίες αυτές, η καψαϊκίνη και τα βανιλλοειδή, καθώς και άλλα φυσικά "θερμά" ή "ψυχρά" προϊόντα προκαλούν, μέσω της αλλαγής διαμόρφωσης του καναλιού, μια ψευδή εντύπωση θερμοκρασίας, που ονομάζεται θερμική υπεραλγησία.

Τα κανάλια TRP ενεργοποιούνται, επίσης, από ουσίες που απελευθερώνονται από ιστό που έχει υποστεί κάκωση και προκαλείται το χαρακτηριστικό αίσθημα καψίματος κατά τη φλεγμονώδη αντίδραση. Η φλεγμονή προκαλεί οξίνιση του ιστού και τα πρωτόνια που παράγονται ενεργοποιούν άμεσα τα κανάλια TRPV1. Τα κανάλια TRPV1 και TRPA1 ενεργοποιούνται έμμεσα από προ-φλεγμονώδεις μεσολαβητές, όπως η βραδυκινίνη, το νευροπεπτιδίο P και η προσταγλανδίνη E.

Οι ουσίες αυτές ενεργοποιούν τους υποδοχείς τους (GPCRs), οι οποίοι μέσω μιας G_q -πρωτεΐνης ενεργοποιούν την PLCβ. Η PLCβ, μέσω της παραγωγής DAG και της εξόδου Ca^{2+} από το ΕΔ που προκαλεί η IP_3 , οδηγεί στο άνοιγμα των καναλιών. Άνοιγμα των καναλιών TRPA1 προκαλεί και η υπερπαραγωγή ROS (λόγω του οξειδωτικού stress), οι οποίες οξειδώνουν τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα της μεμβράνης (PUFAs, PolyUnsaturated Fatty Acids) παράγοντας λιπιδικά υδροπεροξειδία, τα οποία στη συνέχεια μετατρέπονται σε 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), το πιο βιοδραστικό και καλά μελετημένο λιπιδικό αλδεϋδοαλκένιο, το οποίο δημιουργεί δεσμούς με πυρηνόφιλες ομάδες του TRPA1. Η είσοδος του Ca^{2+} από τα TRPs εκπολώνει τον αισθητήριο νευρώνα του πόνου (αλγούποδοχέα), ο οποίος μεταφέρει το μήνυμα στον εγκέφαλο (Εικόνα 4.49).



Η ευαισθησία των μορίων στη θερμοκρασία αξιολογείται από την τιμή του συντελεστή θερμοκρασίας τους (Q_{10}), ο οποίος προσδιορίζεται ως ο ρυθμός μεταβολής της κινητικής των αντιδράσεων, όταν η θερμοκρασία αυξηθεί κατά $10^{\circ}C$. Στα περισσότερα ένζυμα και κανάλια η τιμή του Q_{10} κυμαίνεται στα 3, ενώ στα θερμοευαίσθητα TRP κανάλια η τιμή του Q_{10} είναι μεγαλύτερη από 10.

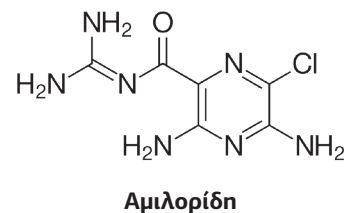
Εικόνα 4.49
Φλεγμονώδεις παράγοντες ρυθμίζουν τα κανάλια TRPA1 και TRPV1, άμεσα και έμμεσα. Βλάβη του ιστού, ισχαιμία ή κυτταρικό stress δημιουργούν έναν μεγάλο αριθμό προφλεγμονωδών παραγόντων, μεταξύ των οποίων εξωκυτταρικά πρωτόνια (H^+), βραδυκνίνη (BK), ανζητικός παράγοντας των νευρών (NGF), όπως επίσης και δραστικές ρίζες οξυγόνου (ROS), οι οποίες μετατρέπονται σε δραστικές καρβονυλικές ρίζες (HNE, hydroxyonenal). Ορισμένοι παράγοντες, όπως HNE και πρωτόνια, ενεργοποιούν απευθείας τα κανάλια TRPA1 ή TRPV1, ενώ η BK και ο NGF ρυθμίζουν τα κανάλια έμμεσα μέσω των υποδοχών τους (BR και TrkA, αντίστοιχα), οι οποίοι ενεργοποιούν τη φωσφολιπάση C (PLCβ και γ, αντίστοιχα). Η PLC ενεργοποιεί τα κανάλια TRPA1 και TRPV1, τα οποία ανοίγουν και ενισχύουν την εκπόλωση του περιφερικού αισθητηρίου αλγούποδοχέα μεταφέροντας το αίσθημα του πόνου στον εγκέφαλο. [97]

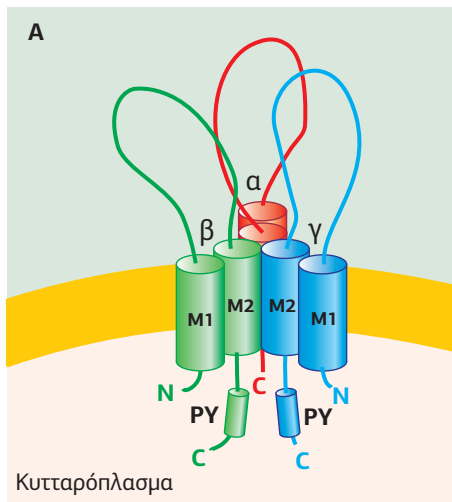
3.8

Επιθηλιακά κανάλια Na^+ : ρύθμιση του ισοζυγίου ηλεκτρολυτών

Τα επιθηλιακά κανάλια Na^+ (ENaCs, Epithelial Na^+ Channels) βρίσκονται στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων, των αεραγωγών και του καθοδικού τμήματος του παχέος εντέρου (distal colon). Ανήκουν στο πρότυπο 2 των καναλιών κατιόντων, καθώς δημιουργούνται από 3 υπομονάδες (α , β , γ), με την κάθε υπομονάδα να αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές α -έλικες (M1-M2) και έναν P-βρόχο ανάμεσά τους (Εικόνα 4.50A). Τα ENaCs μπλοκάρονται από το διουρητικό αμιλορίδη, γι' αυτό είναι γνωστά και ως **κανάλια Na^+ ευαίσθητα στην αμιλορίδη**.

Τα ENaCs, από τα οποία εισέρχονται ιόντα Na^+ μέσα στα επιθηλιακά κύτταρα, παίζουν κύριο ρόλο στη ρύθμιση της ισορροπίας αλάτων και νερού του σώματος. Το χαρακτηριστικότερο παράδειγμα είναι η επαναρρόφηση Na^+ από τα νεφρικά σωληνάρια. Το Na^+ εισέρχεται στα επιθηλιακά κύτταρα από τον αυλό των νεφρικών σωληναρίων μέσω των ENaCs. Το άνοιγμα καθώς και η αγωγιμότητα των ENaCs ελέγχεται από την ηλεκτροχημική βαθμίδωση των ιόντων Na^+ , καθώς αύξηση του εξωκυτταρικού Na^+ οδηγεί σε αύξηση της ροής Na^+ προς το εσωτερικό του κυττάρου, έως όμως μια ορισμένη τιμή, πάνω από την οποία τα κανάλια μέσω ενός μηχανισμού αυτορρύθμισης αλλάζουν διαμόρφωση και μειώνουν τη ροή Na^+ . Η διαδικασία επαναρρόφησης ενεργοποιείται από ορμόνες, όπως η βασοπρεΐνη και η αλδοστερόνη, οι οποίες επάγουν την *de novo* παραγωγή των ENaCs και, κατά συνέπεια, αυξάνουν την είσοδο Na^+ στα επιθηλιακά κύτταρα. Για να ολοκληρωθεί η διαδικασία της επαναπρόσληψης Na^+ , τα ENaCs συνεργάζονται με την Na^+/K^+ ATPάση,

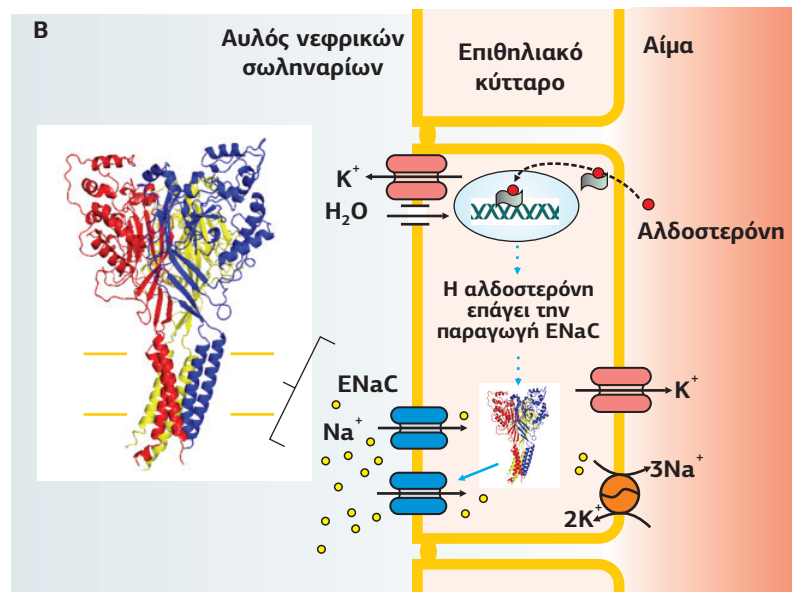




Εικόνα 4.50

A. Δομή των ENaCs. Τα επιθηλιακά κανάλια Na^+ ανήκουν στο πρότυπο 2 των καναλιών κατιόντων καθώς δημιουργούνται από 3 υπομονάδες (α , β , γ), με την κάθε υπομονάδα να αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές α -έλικες (M1, M2) και έναν P-βρόχο ανάμεσά τους. [9]

B. Επαναπρόσληψη Na^+ με τη βοήθεια των ENaCs. Το Na^+ εισέρχεται μέσω των ENaCs στα επιθηλιακά κύτταρα που περιβάλλουν τα νεφρικά σωληνάκια και στη συνέχεια εξέρχεται στο αίμα μέσω της ΑΤΡάσης Na^+/K^+ . Το K^+ που εισέρχεται από το αίμα στα επιθηλιακά κύτταρα εξέρχεται από τα κανάλια K^+ στον αυλό των νεφρικών σωληναρίων. Η διαδικασία ελέγχεται από την αλδοστερόνη. [27].



η οποία βρίσκεται στη βασοπλευρική μεμβράνη των επιθηλιακών κυττάρων και απομακρύνει το Na^+ από τα κύτταρα, και με κανάλια K^+ , τα οποία επιστρέφουν το K^+ που αντλήθηκε από το αίμα στα νεφρικά σωληνάκια, ώστε να απομακρυνθεί με τα ούρα (**Εικόνα 4.50B**).

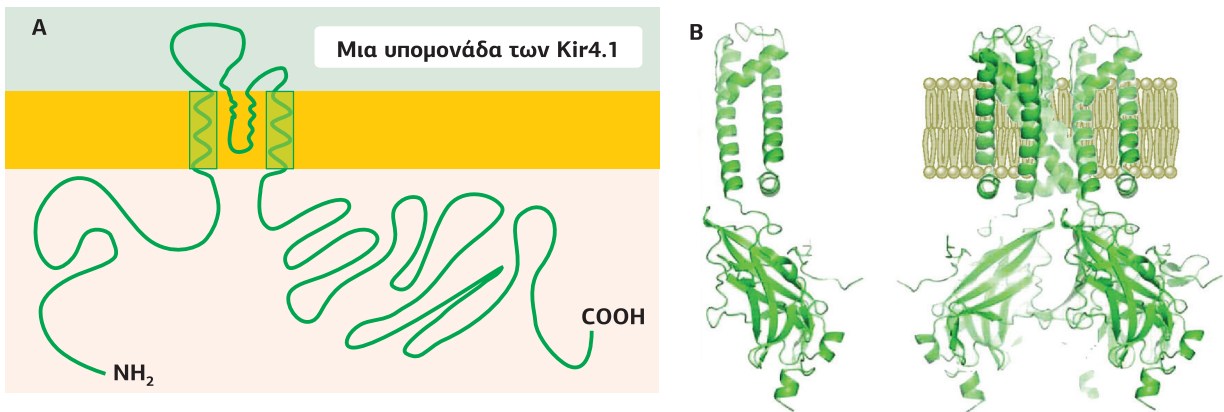
3.9

Κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ : ρύθμιση του δυναμικού ηρεμίας

Μια μεγάλη ομάδα καναλιών K^+ , τα κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ (Kir), ανακαλύφθηκαν λόγω των ιδιαίτερων ηλεκτροφυσιολογικών τους ιδιοτήτων: σε αντίθεση με τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , ανοίγουν έπειτα από υπερπόλωση του κυττάρου, ενώ κλείνουν έπειτα από εκπόλωση. Στον άνθρωπο οι υπομονάδες που δημιουργούν τον πόρο του καναλιού κωδικοποιούνται από 15 γονίδια, οδηγώντας σε μεγάλη δομική και λειτουργική ποικιλομορφία. Η κάθε ισομορφή έχει εξειδικευμένη έκφραση, π.χ. η Kir1.1 εκφράζεται κυρίως στα νεφρά, η Kir2.1 στην καρδιά, η Kir3 ή GIRK (ελέγχεται από G-πρωτεΐνες) σε διεγερσιμα κύτταρα, η Kir4.1 στο κεντρικό νευρικό σύστημα και η Kir6 ή K_{ATP} (ATP-ευαίσθητα κανάλια K^+) στα β -κύτταρα του παγκρέατος.

Τα κανάλια K^+ που ανοίγουν έπειτα από υπερπόλωση ανήκουν στο πρότυπο 2. Δημιουργούνται από 4 υπομονάδες, καθεμία από τις οποίες αποτελείται από 2 διαμεμβρανικές α -έλικες (M1-M2) και έναν P-βρόχο ανάμεσά τους, ενώ απουσιάζει η τασηο-ευαίσθητη διαμεμβρανική περιοχή S4. Το NH_2 -τελικό και το μεγάλο COOH -τελικό τους άκρο βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα (**Εικόνα 4.51**). Καθώς τα Kir στερούνται της διαμεμβρανικής S4 α -έλικας επηρεάζονται από το δυναμικό με έναν άλλο μηχανισμό: Κατά την εκπόλωση, τα κανάλια είναι κλειστά, καθώς η κυτταροπλασματική πλευρά της πύλης του καναλιού κλείνει από θετικά φορτισμένες πολυαμίνες, όπως η σπερμίνη, και από ιόντα Mg^{2+} . Όταν το δυναμικό της μεμβράνης αποκτήσει αρνητικές τιμές (κάτω από την ουδό ενεργοποίησης), η σπερμίνη απομακρύνεται και το κανάλι ανοίγει.

Ενώ το άνοιγμα των τασηο-εξαρτώμενων καναλιών K_v έχει πάντα ως αποτέλεσμα την έξοδο των ιόντων K^+ , τα κανάλια K^+ που ανοίγουν λόγω υπερπόλωσης οδηγούν σε είσοδο ή έξοδο ιόντων K^+ , η οποία εξαρτάται από την ηλεκτροχημική βαθμίδωση των ιόντων K^+ , δηλαδή είναι συνάρτηση του δυναμικού της μεμβράνης και της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης K^+ . Τα ιόντα K^+ θα εισέλθουν στο κύτταρο

**Εικόνα 4.51**

A. Μια υπομονάδα των καναλιών επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ (Kir4.1). Αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές α -έλικες (M1 και M2) και τον P-βρόχο, που δημιουργεί την πύλη του καναλιού. Το NH_2 - και το μεγάλο $COOH$ -τελικό άκρο βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. [84]

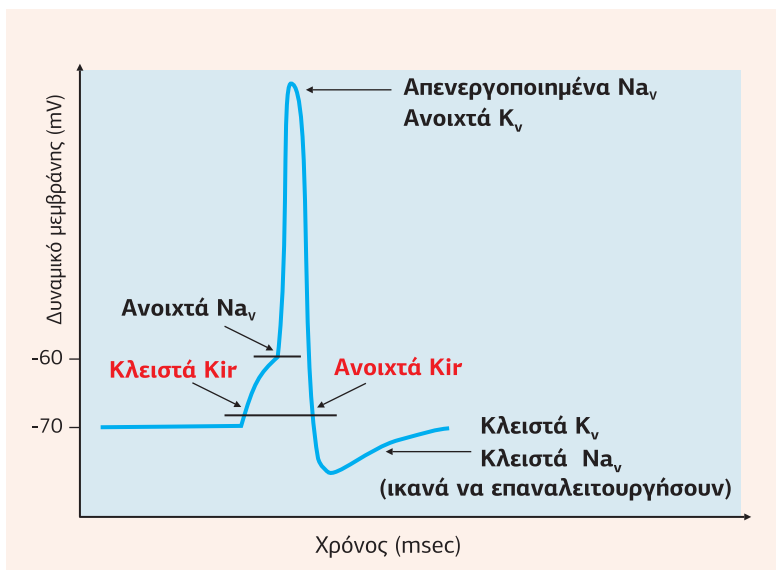
B. Διακρίνεται η τριδιάστατη δομή μιας υπομονάδας καθώς και ολόκληρου του καναλιού, το οποίο δημιουργείται από 4 υπομονάδες. [43]

μόνο όταν η ηλεκτρική δύναμη που κατευθύνει την είσοδο K^+ λόγω της βαθμίδωσης του δυναμικού (αρνητικά φορτισμένο κυτταρόπλασμα) υπερβαίνει τη χημική δύναμη που κατευθύνει την έξοδο K^+ λόγω της βαθμίδωσης της συγκέντρωσης (αυξημένη συγκέντρωση K^+ στο κυτταρόπλασμα). Η είσοδος των ιόντων K^+ από τα Kir είναι απαραίτητη για τη ρύθμιση - επαναφορά του δυναμικού ηρεμίας μετά από υπερπόλωση, και δίνει το όνομα σε αυτόν τον τύπο καναλιών, κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ ή Kir (inwardly rectifying K^+ channels). Ωστόσο, όταν το δυναμικό δεν είναι αρκετά αρνητικό, ορισμένα κανάλια βγάζουν K^+ οδηγώντας σε υπερπόλωση. Αυτό εμποδίζει τις διαδικασίες που εξαρτώνται από την εκπόλωση.

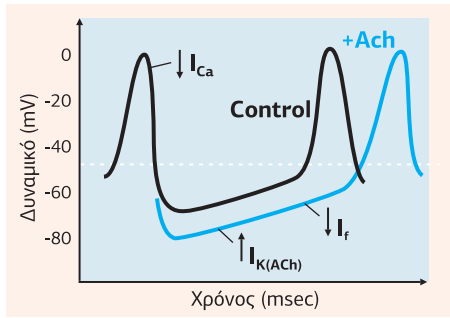
Τα κανάλια Kir, τα οποία ελέγχουν το δυναμικό ηρεμίας, είναι ανοιχτά σε επαρκή αρνητικά δυναμικά. Είναι μεγάλης σημασίας για τη δημιουργία και τη μορφή των δυναμικών δράσης: κατά την αρχική φάση το κλείσιμό τους διευκολύνει την εκπόλωση, ενώ κατά την καθοδική φάση (όταν το κανάλι επαναπόλωσης K_v έχει ήδη κλείσει) ανοίγουν ξανά και ολοκληρώνουν την επαναπόλωση του κυττάρου και, συνεπώς, σταματά το δυναμικό δράσης. Αυτό ισχύει κυρίως για διεγέρσεις μακράς διάρκειας, όπως αυτές που απαιτούνται για τη σύσπαση της καρδιάς, της οποίας η σωστή λειτουργία εξαρτάται με κρίσιμο τρόπο από τα ανοιχτά κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ (βλ. **Εικόνα 4.30, 4.52**).

GIRK (G protein-coupled Inwardly Rectifying potassium channels)

Τα κανάλια GIRK (G protein-coupled Inwardly Rectifying potassium channels) ονομάζονται και Kir3 και ελέγχονται από υποδοχείς GPCRs (όπως οι μουσκαρινικοί M2, οι αδρενεργικοί α_2 , οι ντοπαμινεργικοί D_2 , οι σεροτονεργικοί $5-HT_{1A}$ και οι

**Εικόνα 4.52**

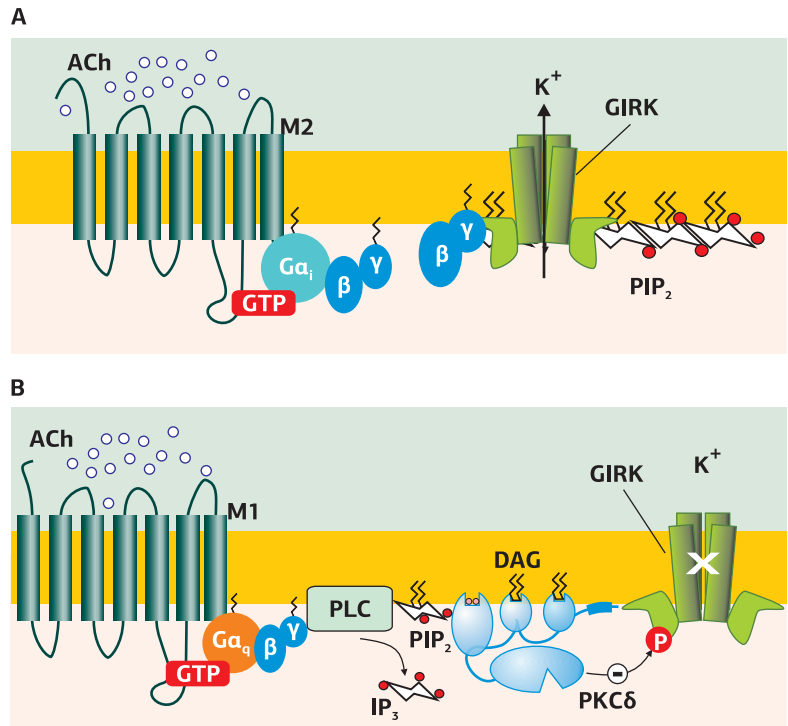
Τα κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ (Kir) κλείνουν όταν το δυναμικό υπερβαίνει την ονδό ενεργοποίησης και το κύτταρο εκπολώνεται. Έτσι το άνοιγμα των τασο-εξαρτώμενων καναλιών Na^+ δημιουργεί την ανοδική φάση του δυναμικού δράσης. Κατά την καθοδική φάση του δυναμικού δράσης που δημιουργείται από το άνοιγμα των τασο-εξαρτώμενων καναλιών K^+ , όταν το δυναμικό πέσει κάτω από το δυναμικό ηρεμίας, το κύτταρο υπερπολώνεται και ανοίγουν τα κανάλια Kir, από τα οποία εισέρχονται ιόντα K^+ και το δυναμικό επανέρχεται στην κατάσταση ηρεμίας.



Εικόνα 4.53

A. Όταν ενεργοποιείται η G_{α_i} πρωτεΐνη, η άμεση σύνδεση των $G\beta\gamma$ υπομονάδων στο κανάλι GIRK οδηγεί στο άνοιγμα του καναλιού, το οποίο ήταν κλειστό καθώς το κύτταρο βρισκόταν σε εκπόλωση. Το άνοιγμά του οδηγεί σε έξοδο ιόντων K^+ και υπερπόλωση της μεμβράνης. Η υπερπόλωση των καρδιακών κυττάρων του φλεβόκομβου που προκαλείται από τη σύνδεση της ακετυλοχολίνης στους M2 υποδοχείς έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της χρονικής διάρκειας που απαιτείται για να επιτευχθεί η απαραίτητη για την εκπόλωση της φάσης 4 ουδός ενεργοποίησης -ως συνέπεια ο καρδιακός ρυθμός μειώνεται. Στην εικόνα, εκτός από το ρεύμα $I_{K(ACh)}$, διακρίνεται και το ρεύμα I_f (funny current) ή ρεύμα βηματοδότη, το οποίο είναι ένα ρεύμα Na^+ που οφείλεται στα κανάλια HCN, ενεργοποιείται κατά την υπερπόλωση και εκπολώνει τη μεμβράνη. Η ACh μέσω της G_{α_i} αναστέλλει την αδενυλική κυκλάση οδηγώντας σε μείωση του cAMP και κατ'επέκταση σε μείωση του ρυθμικού Na^+ .

B. Όταν η ACh ενεργοποιεί τους M1 υποδοχείς, οι οποίοι συνδέονται με μια G_{α_q} πρωτεΐνη, ενεργοποιείται το μονοπάτι PLCβ/ μείωση των PIP_2 / παραγωγή DAG και $IP_3/Ca^{2+}/PKC$ που οδηγεί στο κλείσιμο του καναλιού GIRK, το οποίο ήταν ανοιχτό καθώς το κύτταρο βρισκόταν σε ηρεμία. [17]



$GABA_B$). Το άνοιγμα των καναλιών GIRK, σε αντίθεση με τα τάση-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , οδηγεί στην είσοδο ιόντων K^+ μέσα στο κύτταρο, όταν το δυναμικό της μεμβράνης είναι χαμηλότερο από το δυναμικό ηρεμίας.

Κατά την ενεργοποίηση ενός GPCR, η α -υπομονάδα της G-πρωτεΐνης αποσυνδέει το GDP και συνδέει το GTP. Αυτό οδηγεί στον αποχωρισμό της G_{α} -GTP από τις $G\beta\gamma$ -υπομονάδες, οι οποίες είτε μόνες τους είτε σε συνδυασμό με την G_{α} μπορούν να μεταφέρουν το μήνυμα. Η δράση των G-πρωτεϊνών στα κανάλια GIRK είναι διπλή ανάλογα με το είδος της G-πρωτεΐνης που ενεργοποιείται.

Όταν ενεργοποιείται η πρωτεΐνη G_{α_i} , οι $G\beta\gamma$ υπομονάδες συνδέονται άμεσα στα κανάλια GIRK και τα ανοίγουν. Τα κανάλια GIRK περιέχουν 4 θήκες σύνδεσης της $G\beta\gamma$, οι οποίες δημιουργούνται από το NH_2 -τελικό άκρο της μιας υπομονάδας και το $COOH$ -τελικό άκρο της γειτονικής της (βλ. **Εικόνα 5.37A**). Καθώς οι υποδοχείς που συνδέονται με G_{α_i} -πρωτεΐνες δρουν ανασταλτικά σε κύτταρα που είναι ήδη εκπολωμένα, δηλαδή το δυναμικό της μεμβράνης τους είναι μεγαλύτερο από το δυναμικό ηρεμίας, από τα ανοιχτά GIRKs εξέρχεται K^+ και το κύτταρο υπερπολώνεται.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η δράση της ακετυλοχολίνης μέσω των GIRKs στην ελάττωση της συχνότητας των αυτόματων εκπολώσεων του φλεβόκομβου. Πιο συγκεκριμένα, η ACh ενεργοποιεί τους M2 μουσκαρινικούς υποδοχείς (GPCRs) του φλεβόκομβου (βηματοδότης της καρδιάς). Οι M2 με τη σειρά τους ενεργοποιούν μια G_{α_i} -πρωτεΐνη, της οποίας οι $\beta\gamma$ υπομονάδες ανοίγουν τα GIRKs, από τα οποία εξέρχεται K^+ . Η υπερπόλωση των καρδιακών κυττάρων του φλεβόκομβου έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση της χρονικής διάρκειας που απαιτείται για να επιτευχθεί η απαραίτητη για την εκπόλωση της φάσης 4 ουδός ενεργοποίησης - ως συνέπεια ο καρδιακός ρυθμός μειώνεται (**Εικόνα 4.53A**). Τα κανάλια που ελέγχονται από τους M2 υποδοχείς στην καρδιά ονομάζονται $I_{K(ACh)}$ (muscarinic potassium channels) και είναι ετεροτετραμερή που αποτελούνται από δύο Kir3.1/GIRK1 και δύο Kir3.4/GIRK4 υπομονάδες.

Τα κανάλια GIRK παίζουν, επίσης, σημαντικό ρόλο και στο νευρικό σύστημα. Ένας μεγάλος αριθμός νευροδιαβιβαστών μέσω GPCRs που συνδέονται με G_{α_i} -πρωτεΐνη μπορεί να ανοίξει τα GIRKs υπερπολώνοντας τον νευρώνα. Η υπερπόλωση αναστέλλει την είσοδο ιόντων Ca^{2+} μέσω τάση-εξαρτώμενων καναλιών Ca^{2+} , με αποτέλεσμα την εξασθένιση Ca^{2+} -εξαρτώμενων διαδικασιών, όπως η απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή.

Όταν ενεργοποιείται η πρωτεΐνη $G\alpha_q$, τα κανάλια GIRK αναστέλλονται, κλείνουν. Η $G\alpha_q$ ενεργοποιεί την PLC, η οποία μετατρέπει τα φωσφολιπίδια ινοσιτόλης της μεμβράνης (PIP_2) σε τριφωσφορική ινοσιτόλη (IP_3) και διακυλογλυκερόλη (DAG). Ως συνέπεια ενεργοποιείται η κινάση PKC δ , η οποία φωσφορυλιώνει το κανάλι και το απενεργοποιεί σε συνδυασμό με την ελάττωση των φωσφολιπιδίων της μεμβράνης (**Εικόνα 4.53B**). Όπως και με τα περισσότερα κανάλια ιόντων, τα κανάλια Kir3 απαιτούν την παρουσία φωσφατιδυλο(4,5)διφωσφορικής ινοσιτόλης (PIP_2) για την ενεργοποίησή τους, καθώς η σύνδεση τεσσάρων μορίων PIP_2 στο κανάλι συνδέει το άνοιγμα της εσωτερικής πύλης με την πύλη G-βρόχου, στην οποία συνδέεται κατόπιν η Gβγ (βλ. **Εικόνα 5.36**).

Κανάλια K^+ που ελέγχονται από το ATP, K_{ATP}

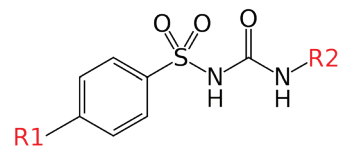
Τα κανάλια K_{ATP} αναγνωρίστηκαν αρχικά στα καρδιακά μυοκύτταρα από τον Akiyori Noma στην Ιαπωνία το 1983. Στη συνέχεια, βρέθηκαν στο πάγκρεας, όπου ελέγχουν την έκκριση της ινσουλίνης. Αυτού του τύπου τα κανάλια αποτελούν ένα παράδειγμα προσδετο-εξαρτώμενων inwardly-rectifying K^+ channels (Kir6). Αν και εμφανίζουν πολλές ομοιότητες με τα GIRKs, δημιουργούν ένα σύμπλεγμα με τη διαμεμβρανική πρωτεΐνη SUR (SulfonylUrea Receptor), η οποία συνδέεται με το ATP/ADP αντί με τις Gβγ υπομονάδες. Τα κανάλια K_{ATP} δρουν ως αισθητήρες της μεταβολικής κατάστασης του κυττάρου, ανιχνεύουν τα ενδοκυτταρικά επίπεδα ATP και συνδέουν τον μεταβολισμό του κυττάρου με το δυναμικό της μεμβράνης. Όταν τα επίπεδα ATP αυξηθούν στο κυτταρόπλασμα, το ATP συνδέεται στις υπομονάδες Kir6 και SUR και το κανάλι κλείνει.

Τα κανάλια K_{ATP} είναι οκταμερή που αποτελούνται από τέσσερις υπομονάδες Kir6 και τέσσερις υπομονάδες SUR, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους για να δημιουργήσουν ένα λειτουργικό κανάλι. Οι υπομονάδες Kir6 δημιουργούν το κεντρικό κανάλι και ρυθμίζουν τη ροή K^+ , ενώ οι υπομονάδες SUR βρίσκονται περιφερειακά και παίζουν ρυθμιστικό ρόλο τροποποιώντας τη δραστηριότητα του καναλιού ανάλογα με τα επίπεδα ATP του κυττάρου (**Εικόνα 4.54**).

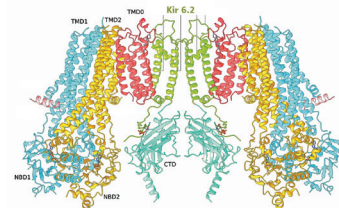
Η SUR είναι μια άτυπη πρωτεΐνη ABC (ATP-Binding Cassette). Οι ABC χρησιμοποιούν την ενέργεια από την υδρόλυση του ATP και ρυθμίζουν έναν μεγάλο αριθμό κρίσιμων κυτταρικών διαδικασιών, από την είσοδο θρεπτικών έως την έξοδο τοξινών. Οι περισσότερες πρωτεΐνες ABC χαρακτηρίζονται ως τυπικές και μεσολαβούν για τη μεταφορά ουσιών διαμέσου των λιπιδικών μεμβρανών. Ωστόσο, υπάρχουν και οι άτυπες ABC, όπως το κανάλι Cl^- CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Receptor) και ο SUR (υποδοχέας σουλφονουρίας), ο οποίος ρυθμίζει τη δραστηριότητα του καναλιού K^+ K_{ATP} .

Η πρωτεΐνη SUR αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές περιοχές TMD1-2 (Transmembrane Domains) με έξι α -έλικες η καθεμία και μια διαμεμβρανική περιοχή 5 α -ελίκων, την TMD0, η οποία συνδέεται με την SUR μέσω μιας περιοχής σύνδεσης LO. Οι περιοχές TMD0 και LO είναι στενά συνδεδεμένες με το NH_2 -τελικό άκρο της υπομονάδας Kir6 και ρυθμίζουν το άνοιγμα του καναλιού K_{ATP} . Επίσης, περιέχει δύο περιοχές σύνδεσης νουκλεοτιδίων NBD1-2 (Nucleotide Binding Domains) ή ABC. Η NBD1 βρίσκεται ανάμεσα στην TMD1 και TMD2, ενώ η NBD2 βρίσκεται στο $COOH$ -άκρο, όπου τα τελευταία 42 αμινοξέα αποτελούν την περιοχή C42 (C-terminal, 42 aa), η οποία αλληλεπιδρά με την NBD2 και ρυθμίζει την υδρόλυση του ATP. Η NBD1 συνδέει το ATP, αλλά δεν μπορεί να το υδρολύσει, ενώ η NBD2 συνδέει με έναν Mg^{2+} -εξαρτώμενο τρόπο, το ATP, το οποίο και υδρολύει.

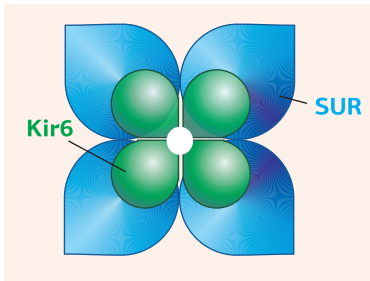
Οι υπομονάδες Kir έχουν τη χαρακτηριστική δομή του πρότυπου 2 (δύο διαμεμβρανικές περιοχές και τον P-βρόχο ανάμεσά τους). Επιπλέον, στο $COOH$ -τελικό άκρο έχουν μια θέση σύνδεσης για το ATP. Η σύνδεση του ATP στις υπομονάδες Kir κρατά κλειστό το κανάλι. Όταν το κανάλι είναι κλειστό, το ATP βρίσκεται επίσης συνδεδεμένο στις περιοχές NBD1 και NBD2 της SUR. Όταν το ATP στο κύτταρο μειώνεται αισθητά, η περιοχή NBD2 υδρολύει το ATP και παραμένει συνδεδεμένη με το Mg^{2+} -ADP. Αυτή η σύνδεση ευνοεί μια αλλαγή διαμόρφωσης που μεταφέρεται



Γενική δομή αναλόγων σουλφονουρίας

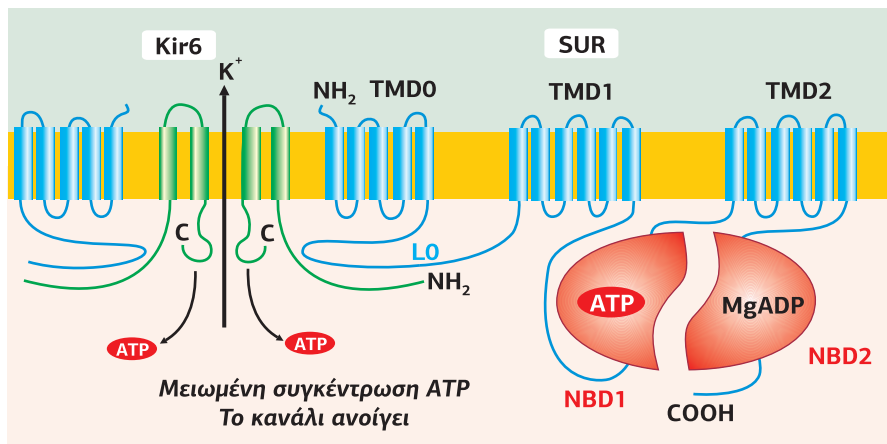
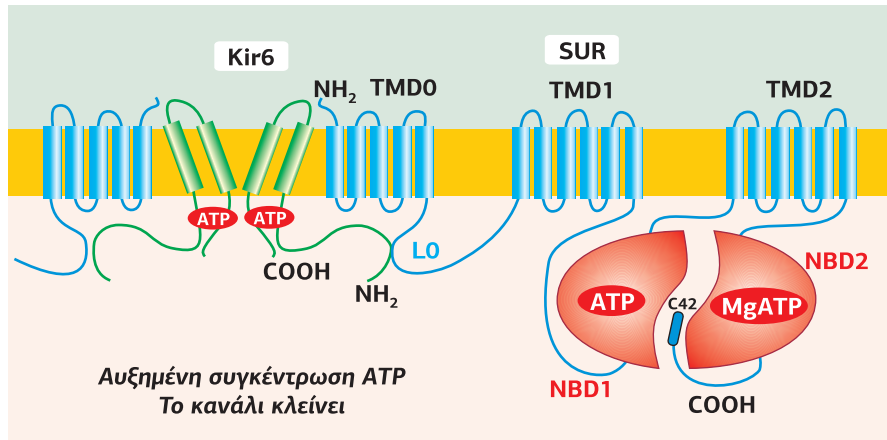


Δύο από τις 4 υπομονάδες του συμπλέγματος Kir6.2 (πράσινο)/SUR1 (κόκκινο, κίτρινο, γαλάζιο)



Εικόνα 4.54

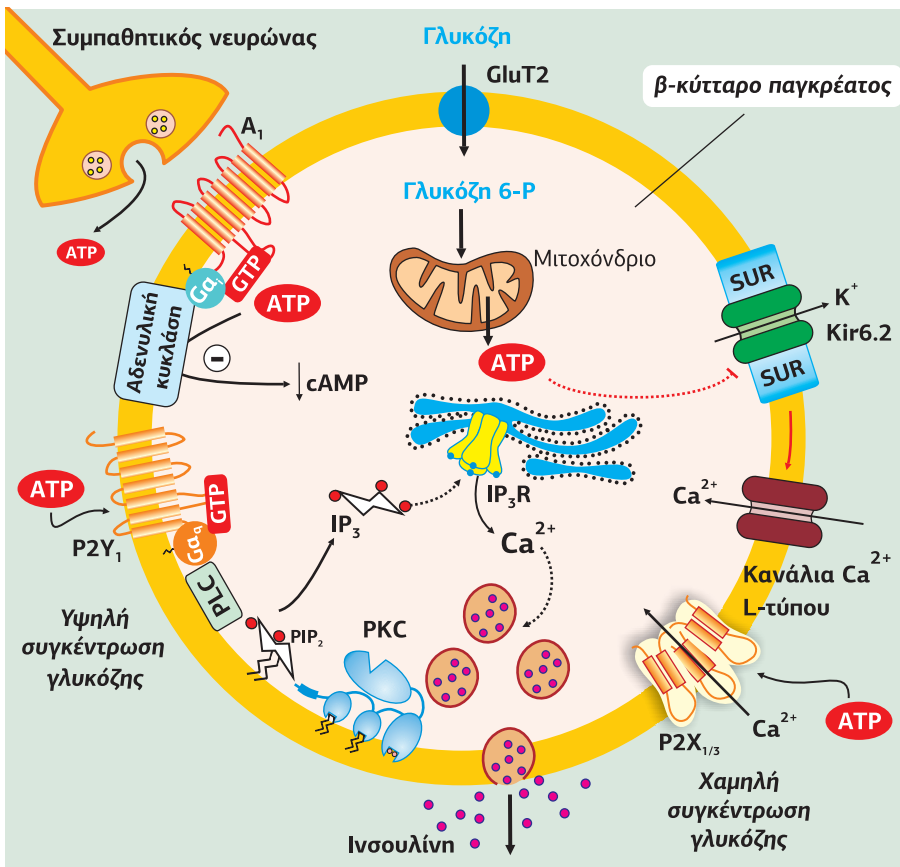
Τα κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ που ελέγχονται από το ATP (Kir6 ή K_{ATP}). Το κανάλι K_{ATP} είναι ένα ετερο-οκταμερές που αποτελείται από τέσσερις υπομονάδες Kir6 που βρίσκονται στο κέντρο του καναλιού και δημιουργούν τον πόρο, και τέσσερις υπομονάδες SUR τοποθετημένες περιφερειακά που παίζουν έναν ρυθμιστικό ρόλο. Η κάθε υπομονάδα Kir6 αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές περιοχές και τον P-βρόχο ανάμεσά τους. Επιπλέον, οι Kir6 στο COOH-τελικό άκρο έχουν μια θέση σύνδεσης για το ATP. Η SUR αλληλεπιδρά με την Kir6 μέσω της διαμεμβρανικής περιοχής TMD0 (η οποία βρίσκεται στο NH_2 -τελικό άκρο) και μιας περιοχής συνδέτη LO (ένας κυτταροπλασματικός βρόχος που συνδέει τις TMD0 και TMD1 της SUR). Η SUR, επίσης, περιέχει δύο διαμεμβρανικές περιοχές (TMD1 και TMD2) και δύο κυτταροπλασματικές περιοχές σύνδεσης νουκλεοτιδίων NBDs. Η NBD1 βρίσκεται ανάμεσα στην TMD1 και TMD2, ενώ η NBD2 βρίσκεται στο COOH-άκρο. Στο COOH-τελικό άκρο βρίσκεται, επίσης, και η περιοχή C42, η οποία αλληλεπιδρά με την NBD2 και ρυθμίζει την υδρόλυση του ATP. Όταν η συγκέντρωση του ATP είναι αυξημένη, το ATP συνδέεται στις υπομονάδες Kir, και στις δύο NBD περιοχές της SUR, κρατώντας το κανάλι κλειστό. Η μείωση της συγκέντρωσης του ενδοκυτταρικού ATP οδηγεί στην υδρόλυσή του από την περιοχή NBD2, η οποία παραμένει συνδεδεμένη με το $Mg^{2+}ADP$. Αυτή η σύνδεση εννοεί μια αλλαγή διαμόρφωσης που μεταφέρεται στο κανάλι Kir μέσω της περιοχής TMD0/LO της SUR, εμποδίζοντας την τονική αναστολή που ασκεί το ATP στην υπομονάδα Kir οδηγώντας στο άνοιγμα του καναλιού. [19]



στις υπομονάδες Kir μέσω της περιοχής TMD0/LO, εμποδίζοντας την τονική αναστολή που ασκεί το ATP στην υπομονάδα Kir οδηγώντας στο άνοιγμα του καναλιού (Εικόνα 4.54).

Το σύμπλεγμα K_{ATP} -SUR συμμετέχει στη ρύθμιση της έκκρισης της ινσουλίνης από τα β-κύτταρα του παγκρέατος. Σε αυτήν την περίπτωση ο SUR δρα ως ένας αισθητήρας ενέργειας, ρυθμίζοντας την αγωγιμότητα του καναλιού σε συνάρτηση με την αναλογία ATP/ADP, η οποία εξαρτάται άμεσα από τα επίπεδα σακχάρου στο αίμα. Τα β-κύτταρα αποκρίνονται στην αύξηση της γλυκόζης στο αίμα αυξάνοντας την πρόσληψη γλυκόζης μέσω μεμβρανικών μεταφορέων. Αυτό οδηγεί σε αύξηση του κυτταροπλασματικού ATP, το οποίο συνδέεται στις υπομονάδες Kir6 και SUR του καναλιού K_{ATP} . Ως αποτέλεσμα, το κανάλι κλείνει, η έξοδος των ιόντων K^+ σταματά και το δυναμικό ηρεμίας γίνεται λιγότερο αρνητικό, διευκολύνοντας την εκπόλωση της μεμβράνης και την απελευθέρωση της ινσουλίνης. Καθώς η τελευταία είναι μια διαδικασία εξωκύτωσης, επάγεται από την είσοδο ιόντων Ca^{2+} στο κύτταρο, μέσω ταυ-εξαρτώμενων L-τύπου καναλιών Ca^{2+} που απαντούν σε οποιαδήποτε μεταβολή του δυναμικού (Εικόνα 4.55). Η ινσουλίνη, στη συνέχεια, θα ενεργοποιήσει την πρόσληψη της γλυκόζης του αίματος από τα σκελετικά μυϊκά κύτταρα και τα κύτταρα του λιπώδη ιστού.

Αντιθέτως, η μείωση της συγκέντρωσης γλυκόζης στο αίμα προκαλεί πτώση του ενδοκυτταρικού ATP και το ATP, που είναι συνδεδεμένο στην NBD2 της SUR, υδρολύεται σε ADP. Κάτω από αυτές τις συνθήκες τα κανάλια K_{ATP} ανοίγουν, το κύτταρο υπερπολώνεται και η έκκριση της ινσουλίνης μειώνεται. Μεταλλάξεις του SUR οδηγούν σε διαβήτη και αποτελεί εξειδικευμένο στόχο αντιδιαβητικών φαρμάκων. Τα φάρμακα σουλφονουλουρίας (π.χ. κλωροπροπαμίδη), τα οποία χρησιμοποιούνται ως αντιδιαβητικά, σταθεροποιούν το συνδεδεμένο ATP στις υπομονάδες SUR και προωθούν την απελευθέρωση της ινσουλίνης από το πάγκρεας.

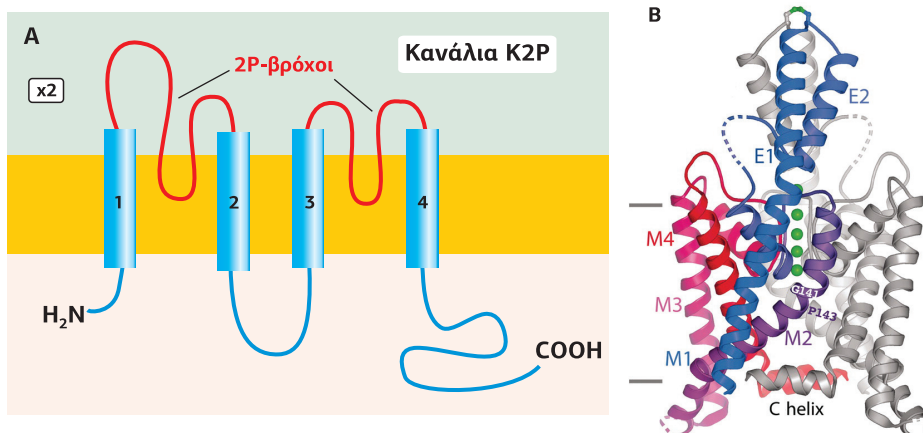


Εικόνα 4.55
Τα κανάλια K_{ATP} στα β -κύτταρα του παγκρέατος ελέγχουν την απελευθέρωση της ινσουλίνης. Η ύπαρξη μεγάλης ποσότητας γλυκόζης στα κύτταρα, η οποία εισέρχεται μέσω των μεταφορών GluT2, οδηγεί σε αυξημένη παραγωγή ATP. Το ATP συνδέεται στις υπομονάδες Kir6.2 και SUR1 και κλείνει τα ATP-ευαίσθητα κανάλια, K_{ATP} . Η έξοδος K^+ σταματά, το κύτταρο εκπολώνεται και ανοίγουν τα L-τύπου τασοεξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} . Η αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} οδηγεί στην εξωκύτωση εκκριτικών κυστιδίων που περιέχουν ινσουλίνη. Το ATP μπορεί να απελευθερωθεί και από συμπαθητικούς και παρασυμπαθητικούς νευρώνες και να ενεργοποιήσει τους πουρινεργικούς υποδοχείς P2 ενισχύοντας την απελευθέρωση ινσουλίνης: οι GPCRs υποδοχείς $P2Y_1$, μέσω της G_q και της PLC αυξάνουν το ενδοκυτταρικό Ca^{2+} και ενεργοποιούν την κινάση PKC, ενώ οι υποδοχείς $P2X_{1/3}$, οι οποίοι είναι κανάλια Ca^{2+} αυξάνουν άμεσα το ενδοκυτταρικό Ca^{2+} . Επιπλέον, η αδενοσίνη μέσω του $A1$ υποδοχέα αναστέλλει την AC και μειώνει το cAMP, αναστέλλοντας την απελευθέρωση ινσουλίνης. [79]

3.10 Κανάλια K^+ με 2 P-βρόχους: βαλβίδες μείωσης πίεσης, αισθητήρες θερμοκρασίας

Τα κανάλια K^+ με δύο P-βρόχους (K2P) αποτελούν μια τρίτη οικογένεια εξειδικευμένων καναλιών K^+ , τα οποία παρουσιάζουν μεγάλη ομοιότητα με τα κανάλια Kir. Αυτά τα κανάλια αποτελούνται από δύο α -υπομονάδες, η καθεμία από τις οποίες έχει 4 διαμεμβρανικές έλικες και 2 P-βρόχους, μοιάζει δε με δύο υπομονάδες ενός καναλιού Kir συνδεδεμένες μεταξύ τους (Εικόνα 4.56).

Τα κανάλια K2P είναι ανοικτά στην κατάσταση ηρεμίας και σταθεροποιούν το αρνητικό δυναμικό της μεμβράνης κάτω από την ουδό ενεργοποίησης των διεγερσιμων κυττάρων (νευρώνες, μυϊκά κύτταρα και ορισμένους τύπους επιθηλιακών κυττάρων), γενικά, εμποδίζουν τη διέγερση και επιταχύνουν την επαναπόλωση. Αν και η ύπαρξη ανοικτών καναλιών προτάθηκε το 1952 από τον Hodgkin και τον



Εικόνα 4.56
Τα κανάλια K^+ με δύο P-βρόχους (K2P). Α. Τα K2P αποτελούνται από δύο α -υπομονάδες, η καθεμία από τις οποίες έχει 4 διαμεμβρανικές έλικες και 2 P-βρόχους. Η κάθε υπομονάδα μοιάζει με δύο υπομονάδες του καναλιού Kir συνδεδεμένες μεταξύ τους. [28] Β. Η κρυσταλλική δομή του καναλιού K2P1 (TWIK-1). [70]

Εικόνα 4.57
Πολύπλοκη ρύθμιση των καναλιών K_{2P}, TREK1 και TREK2. Τα κανάλια αυτά ενεργοποιούνται από φυσικοχημικές αλλαγές, όπως η μηχανική πίεση από την παραμόρφωση της πλασματικής μεμβράνης, η εκπόλωση, η θερμότητα και η ενδοκυτταρική οξέωση. Επίσης, πολυακόρεστα λιπαρά οξέα, όπως το αραχιδονικό οξύ (AA) και μια μεγάλη ποικιλία πτητικών αναισθητικών ανοίγουν τα κανάλια TREK. Η ενεργοποίηση των σηματοδοτικών οδών Gα_s/cAMP/PKA και Gα_i/PLCβ/DAG/PKC κλείνουν τα κανάλια TREK, μέσω της φωσφορυλίωσης συγκεκριμένων καταλοίπων σερίνης του COOH-άκρου. Η αλληλεπίδραση των TREK με τον κυτταροσκελετό έχει αμφίδρομη επίδραση: τα κανάλια διαμορφώνουν τον κυτταροσκελετό ενώ αναστέλλονται από αυτόν. Τα TREK1 αλληλεπιδρούν, επίσης, με την AKAP150, η οποία μειώνει την ευαισθησία του καναλιού σε ρυθμιστικούς παράγοντες. [28]

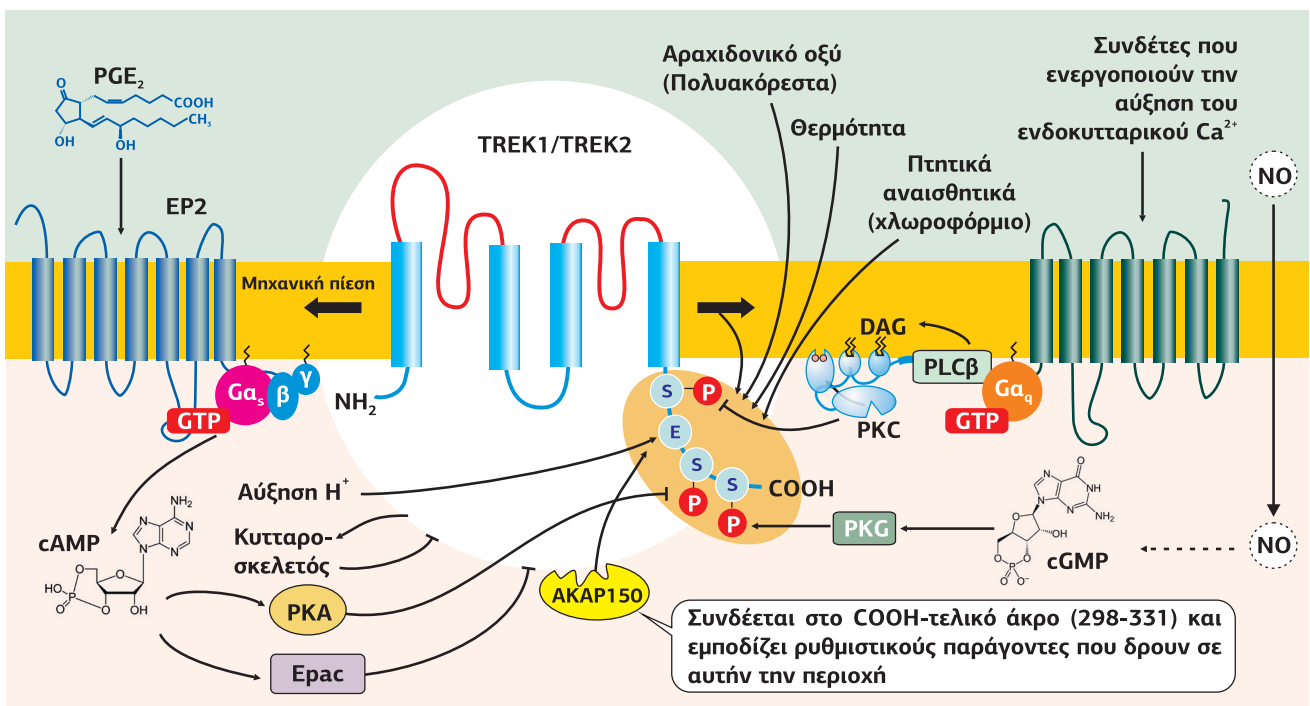
Huxley, παρέμειναν ένα μυστήριο για 40 περίπου χρόνια. Μετά την κλωνοποίηση των τασεο-εξαρτώμενων, των καναλιών επανορθωτικού ρεύματος εισόδου Kir, και των Ca²⁺-ευαίσθητων καναλιών K⁺, το 1996 αναγνωρίστηκε το πρώτο K2P κανάλι, το TWIK1, το οποίο γρήγορα οδήγησε στην ανακάλυψη της οικογένειας των “ανοιχτών” καναλιών K⁺ (leak K⁺ current). Από το 1996 έως το 2003 κλωνοποιήθηκαν άλλα 14 μέλη της οικογένειας των K2P.

Παρότι τα μέλη των διαφορετικών υποοικογενειών εμφανίζουν πολύ μικρή ομολογία στην αλληλουχία τους (π.χ. 28% ομοιότητα ανάμεσα στα κανάλια TWIK1 και TREK1 στο επίπεδο της πρωτεΐνης), όλα τα μέλη της οικογένειας των ανοιχτών καναλιών χαρακτηρίζονται από την ίδια αρχιτεκτονική των δύο P-βρόχων (K2P), η οποία οδηγεί σε ένα μόνιμο ρεύμα K⁺ (leak/background).

Τα κανάλια K2P εμφανίζουν από τους πιο ευέλικτους μηχανισμούς ρύθμισης σε σχέση με οποιαδήποτε άλλη κατηγορία καναλιών. Ένα από τα χαρακτηριστικότερα παραδείγματα είναι η ρύθμιση των καναλιών TREK από φυσικούς παράγοντες, όπως το δυναμικό, η θερμοκρασία και η μηχανική πίεση από την έκταση της μεμβράνης, αλλά επίσης και από χημικούς παράγοντες, όπως φυσικοί προσδέτες, ενδοκυτταρικά και εξωκυτταρικά H⁺, πολυακόρεστα λιπίδια (PUFA, Polyunsaturated Fatty Acids), φωσφολιπίδια και πτητικά αναισθητικά (χλωροφόρμιο) (Εικόνα 4.57).

Η μηχανική πίεση από το εσωτερικό του κυττάρου επηρεάζει ορισμένα κανάλια K2P (TREK/TRAAK), τα οποία παίζουν τον ρόλο βαλβίδων που μειώνουν και ανακουφίζουν από την πίεση, καθώς ανοίγουν όταν η πλασματική μεμβράνη δέχεται πίεση. Μια τέτοια κατάσταση συμβαίνει σε ένα υπότονο περιβάλλον. Για να αποφευχθεί η ρήξη του κυττάρου, το κύτταρο πρέπει να μειώσει τη συγκέντρωση των ωσμωτικά δραστικών ουσιών, κυρίως απελευθερώνοντας ηλεκτρολύτες, όπως το K⁺, η κυτταροπλασματική συγκέντρωση του οποίου είναι αρκετά υψηλή. Για να διατηρηθεί η ηλεκτρολυτική ουδετερότητα, ανοίγουν ταυτόχρονα κανάλια Cl⁻ ευαίσθητα στην πίεση. Ως αποτέλεσμα η συγκέντρωση KCl του κυτταροπλάσματος μειώνεται.

Ένα άλλο φυσικό ερέθισμα είναι η θερμοκρασία. Κανάλια K2P ευαίσθητα στη θερμοκρασία εκφράζονται κυρίως σε αισθητήριους νευρώνες και στον υποθάλαμο. Λειτουργούν ως αισθητήρες θερμοκρασίας καθώς κλείνουν ως απάντηση στο ψυχρό, διευκολύνοντας τη δημιουργία δυναμικών δράσης. Ορισμένοι νευρώνες του υποθαλάμου χρησιμοποιούν αυτόν τον τύπο του καναλιού για να ρυθμίσουν τη



θερμοκρασία του σώματος. Αυτό το αποτέλεσμα μεσολαβείται από την προσταγλανδίνη E_2 , η οποία αλληλεπιδρώντας με τον GPCR υποδοχέα EP2 ενεργοποιεί μια G_{α_s} πρωτεΐνη και την αδενυλική κυκλάση για την παραγωγή cAMP. Ως αποτέλεσμα ενεργοποιείται μια κινάση PKA, η οποία φωσφορυλιώνει τη Ser333 των καναλιών TREK. Εξαιτίας της φωσφορυλίωσης τα κανάλια κλείνουν, καθιστώντας το δυναμικό ηρεμίας λιγότερο αρνητικό διευκολύνοντας την εκπόλωση. Αυτό οδηγεί στην αύξηση της δραστηριότητας των συγκεκριμένων νευρώνων του υποθαλάμου, που οδηγεί σε αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος. Καθώς ο πυρετός αναπτύσσεται με την ίδια διαδικασία, φάρμακα που αναστέλλουν τη σύνθεση της προσταγλανδίνης, όπως η ασπιρίνη, έχουν αντιπυρετικά αποτελέσματα.

4. Υποδοχείς, προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια ιόντων (Extracellular ligand-gated ion channel receptors)

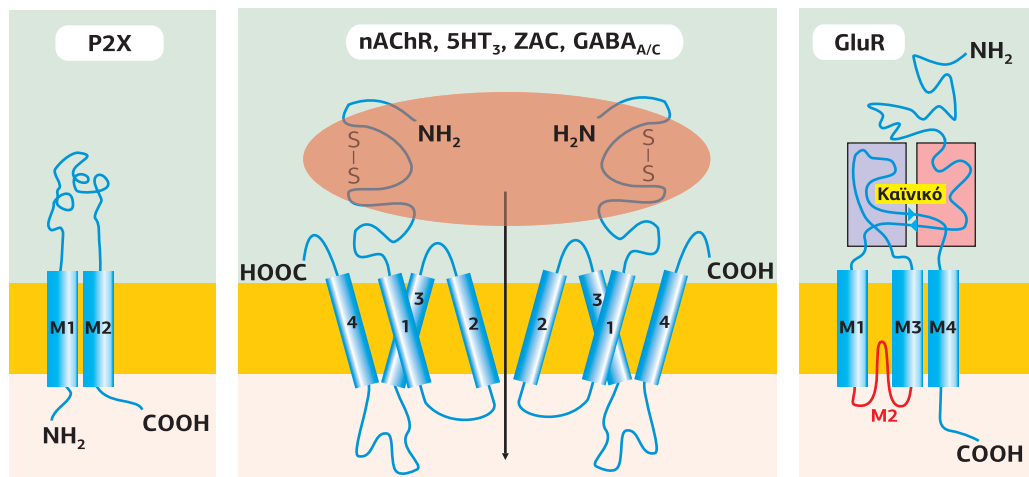
Οι υποδοχείς καναλιών ιόντων ή κανάλια ιόντων εξαρτώμενα από εξωκυτταρικούς προσδέτες-διαβιβαστές είναι ετερο-ολιγομερή συμπλέγματα πρωτεϊνών, τα οποία μπορούμε να κατατάξουμε σε 3 υπερικογένειες (Εικόνα 4.58):

Την **οικογένεια των πουρινεργικών υποδοχέων του ATP (P2X)**. Πρόκειται για κανάλια κατιόντων που αποτελούνται από τρεις υπομονάδες, κάθε υπομονάδα αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές περιοχές που συνδέονται με έναν μεγάλο εξωκυτταρικό βρόχο, ενώ το NH_2 - και το $COOH$ -τελικό άκρο τους βρίσκεται ενδοκυτταρικά. Έως σήμερα έχουν αναγνωριστεί 7 υπομονάδες P2X, καθεμία από τις οποίες μπορεί να δημιουργήσει λειτουργικούς ομομερείς υποδοχείς. Λειτουργικοί ετερομερείς σχηματίζονται ανάμεσα στους $P2X_{2/3}$, $P2X_{1/5}$, $P2X_{2/6}$ και $P2X_{4/6}$.

Την **υπερικογένεια των υποδοχέων του Cys-βρόχου**. Είναι η μεγαλύτερη οικογένεια προσδετο-εξαρτώμενων καναλιών υποδοχέων, οι οποίοι αποτελούνται από 5 διαφορετικές πρωτεϊνικές υπομονάδες ($\alpha_2\beta\gamma\delta$) και περιέχουν έναν χαρακτηριστικό βρόχο κυστεΐνης στο NH_2 -τελικό τους άκρο. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από 4 διαμεμβρανικές περιοχές και το $COOH$ -τελικό και το NH_2 -τελικό τους άκρο στον εξωκυτταρικό χώρο. Οι δύο θέσεις σύνδεσης του προσδέτη βρίσκονται εξωκυτταρικά, στην επιφάνεια ανάμεσα στις α/γ και α/δ υπομονάδες. Έχουν βρεθεί πολλά γονίδια που κωδικοποιούν διαφορετικές υπομονάδες, ο συνδυασμός των οποίων συντελεί στη μεγάλη ποικιλομορφία των υποδοχέων αυτών. Ο μεγάλος ενδοκυτταρικός βρόχος ανάμεσα στις διαμεμβρανικές περιοχές TM3 και TM4 αλληλεπιδρά με κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες. Στην υπερικογένεια των υποδοχέων Cys-βρόχου ταξινομούνται κανάλια κατιόντων (νικοτινικοί υποδοχείς nAChR, σεροτονεργικοί 5-HT₃ και κανάλια που ενεργοποιούνται από Zn^{2+} ZAC) και κανάλια ανιόντων (γ -αμινοβουτυρικού οξέος GABA_A, GABA_C και γλυκίνης).

Εικόνα 4.58

Τα τρία είδη υποδοχέων προσδετο-εξαρτώμενων (από εξωκυτταρικούς προσδέτες) καναλιών ιόντων: οι υποδοχείς του ATP (P2X), η υπερικογένεια Cys-loop (nAChR, 5HT₃, ZAC-Zinc activated ion channel, GABA_{A/C}) και οι υποδοχείς του γλουταμινικού οξέος (GluR). [46]



Την **υπεροικογένεια των ιοντοτροπικών υποδοχέων του γλουταμινικού**. Είναι κανάλια κατιόντων που αποτελούνται από τέσσερις πρωτεϊνικές υπομονάδες. Κάθε υπομονάδα περιέχει ένα εξωκυτταρικό NH_2 -τελικό άκρο, τρεις διαμεμβρανικές περιοχές, έναν ενδοκυτταρικό M2-βρόχο, ανάμεσα στην I και III διαμεμβρανική περιοχή και ένα COOH -τελικό άκρο που βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα. Η υπερκογένεια αυτή περιλαμβάνει τις τρεις κατηγορίες των υποδοχέων του γλουταμινικού, NMDARs (αποτελείται από δυο υπομονάδες NR1 και δύο από τους υπότυπους NR2A, NR2B, NR2C, NR2D), AMPARs και υποδοχείς καϊνικού.

Οι υποδοχείς κανάλια ιόντων παραμένουν κλειστοί σε κατάσταση ηρεμίας, ενώ ανοίγουν μετά τη σύνδεση του εξωκυτταρικού νευροδιαβιβαστή, επιτρέποντας την είσοδο μονοσθενών ή δισθενών ιόντων: Na^+ και σπανιότερα Ca^{2+} στον νικοτινικό υποδοχέα, στον 5-HT_3 και στους γλουταμινικούς υποδοχείς, και Cl^- στους υποδοχείς GABA_A , GABA_C και γλυκίνης. Η είσοδος των κατιόντων προκαλεί εκπόλωση της μεμβράνης και, συνεπώς, διέγερση του κυττάρου. Οι νικοτινικοί υποδοχείς της ακετυλοχολίνης, οι σεροτονεργικοί 5-HT_3 και οι υποδοχείς του γλουταμινικού (υποδοχείς NMDA, AMPA και καϊνικού) είναι διεγερτικοί υποδοχείς. Αντιθέτως, η είσοδος των ανιόντων προκαλεί υπερπόλωση της μεμβράνης και, συνεπώς, αναστολή της δραστηριότητας του κυττάρου στόχου. Οι υποδοχείς GABA_A και GABA_C είναι οι κύριοι ανασταλτικοί υποδοχείς του ΚΝΣ, ενώ οι υποδοχείς της γλυκίνης είναι οι κύριοι ανασταλτικοί υποδοχείς του νωτιαίου μυελού.

Οι υποδοχείς κανάλια είναι σε θέση να μεταδίδουν πολύ γρήγορα, σε msec, το μήνυμα (fast responding receptors), σε αντίθεση με τους υποδοχείς που ενώνονται με G-πρωτεΐνες, οι οποίοι δρουν πολύ πιο αργά, έχοντας πιο πολύπλοκο μηχανισμό δράσης, εφόσον απαιτείται η ενεργοποίηση της G-πρωτεΐνης, η οποία με τη σειρά της θα ενεργοποιήσει τον τελειοτή για να συντεθεί ο δεύτερος διαβιβαστής.

4.1

Οικογένεια των πουρινεργικών υποδοχέων του ATP (P2X)

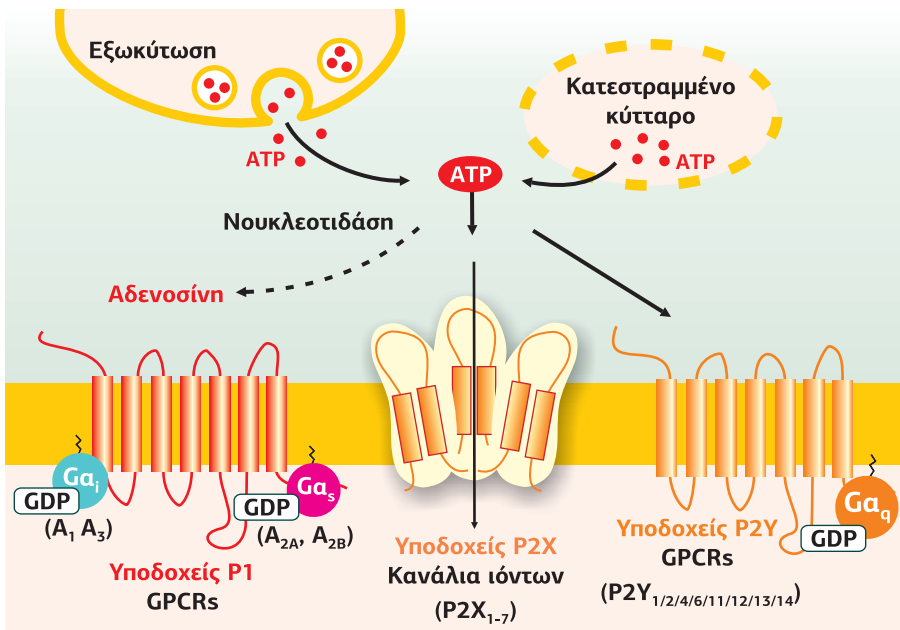
Ιοντοτροπικοί υποδοχείς (ionotropic receptors) ονομάζονται οι υποδοχείς που είναι προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια ιόντων, τα οποία ανοίγουν μετά τη σύνδεση του εξωκυττάρου διαβιβαστή. **Μεταβοτροπικοί υποδοχείς** (metabotropic receptor) είναι διαμεμβρανικοί υποδοχείς, οι οποίοι μετά την ενεργοποίησή τους από τον εξωκυτταρικό διαβιβαστή ξεκινούν ένα μονοπάτι βιοχημικών αντιδράσεων στο εσωτερικό του κυττάρου. Συχνά, ως μεταβοτροπικοί χαρακτηρίζονται οι GPCRs καθώς η δράση τους μεσολαβείται από μεταβολικές λειτουργίες, όπως για παράδειγμα η ενεργοποίηση ενζύμων (G-πρωτεΐνες, αδενυλική κυκλάση, φωσφολιπάση C, κ.λπ.).

Το ATP είναι ένα μόριο απαραίτητο σε όλες τις μορφές ζωής. Εκτός από κύρια πηγή ενέργειας, απελευθερώνεται από υγιή ή κατεστραμμένα κύτταρα και παίζει κρίσιμο ρόλο στη διακυτταρική επικοινωνία ενεργοποιώντας ιοντοτροπικούς P2X_{1-7} (ligand-gated ion channels), αλλά και μεταβοτροπικούς GPCR υποδοχείς $\text{P2Y}_{1/2/4/6/11/12/13/14}$ (**Εικόνα 4.59**). Ο ρόλος του εξωκυτταρικού ATP στη διακυτταρική επικοινωνία και τη μεταγωγή σήματος προτάθηκε το 1972, αλλά έγινε δεκτός με σκεπτικισμό έως το 1993 όταν κλωνοποιήθηκε ο πρώτος πουρινεργικός P2X υποδοχέας. Οι P2X s βρίσκονται σε όλους τους ιστούς και μεσολαβούν σε μια μεγάλη ποικιλία κυτταρικών λειτουργιών, από την ταχεία νευροδιαβίβαση στο ΚΝΣ, τη σύσπαση των λείων μυϊκών κυττάρων, τη συσσώρευση αιμοπεταλίων, την ενεργοποίηση των μακροφάγων, τη μετάδοση του πόνου έως τον πολλαπλασιασμό και τον κυτταρικό θάνατο.

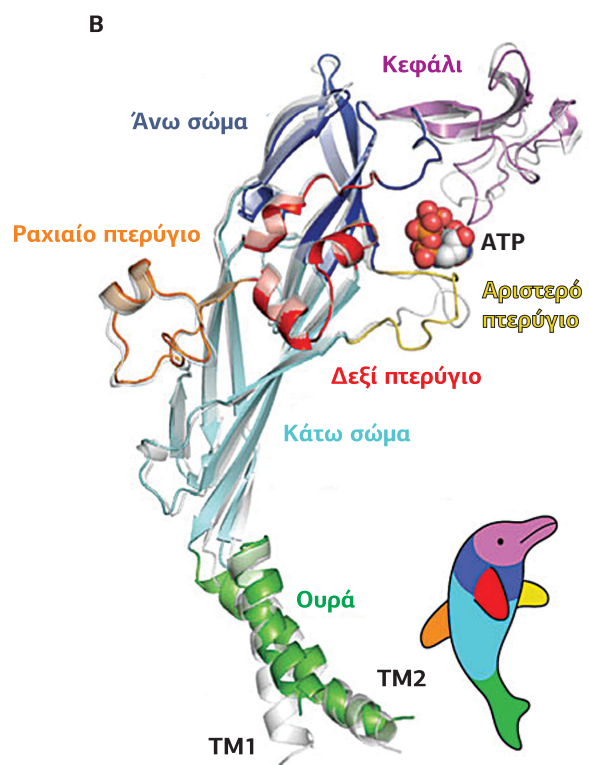
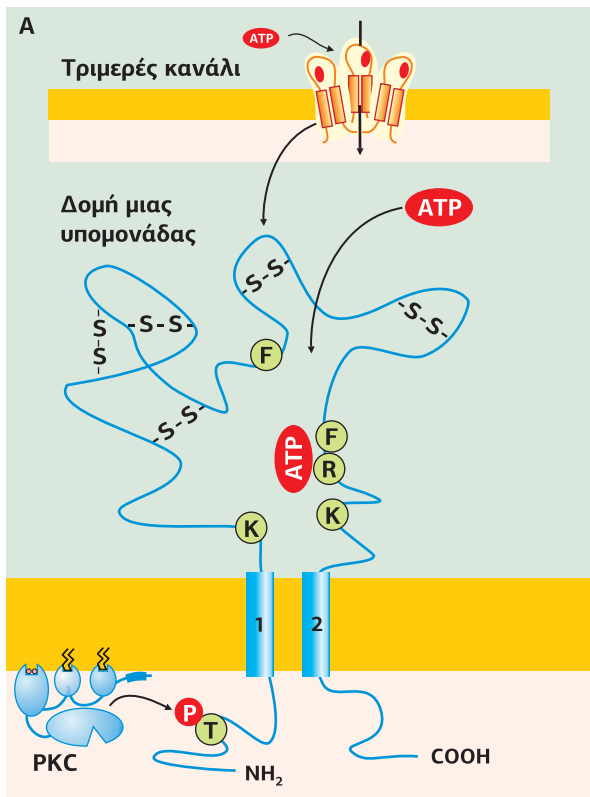
Οι ιοντοτροπικοί πουρινεργικοί υποδοχείς P2X είναι ομο- ή ετερο-τριμερή κανάλια, τα οποία ανοίγουν μετά τη σύνδεση εξωκυτταρικού ATP στον εξωκυτταρικό βρόχο, εισέρχεται Ca^{2+} στο κύτταρο, το οποίο εκπολώνεται. Για το άνοιγμα του καναλιού απαιτείται η **σύνδεση 3 μορίων ATP**. Έχουν αναγνωριστεί επτά ισομορφές P2X , οι οποίες εμφανίζουν όλες την ίδια δομή, δύο διαμεμβρανικές περιοχές συνδεδεμένες με έναν μεγάλο εξωκυτταρικό βρόχο (280 αμινοξέα) και τις NH_2 - και COOH -τελικές περιοχές στο κυτταρόπλασμα. Στον μεγάλο εξωκυτταρικό βρόχο υπάρχουν 10 καλά συντηρημένα κατάλοιπα Cys, τα οποία δημιουργούν 5 δισουλφιδικούς δεσμούς. Στο NH_2 -τελικό άκρο υπάρχει μια καλά συντηρημένη Thr17, θέση για φωσφορυλίωση από την κινάση PKC (**Εικόνα 4.60**).

Οι υποδοχείς P2X αλληλεπιδρούν με φωσφοϊνοσιτίδια της μεμβράνης μέσω των καταλοίπων Lys365 και Lys369, καθώς και με συγκεκριμένες πρωτεΐνες δημιουργώντας εξειδικευμένα σηματοδοτικά συμπλέγματα.

Η σύνθεση των υπομονάδων καθορίζει τις βιοφυσικές ιδιότητες των P2X s και τους ρυθμούς απενεργοποίησής τους. Για παράδειγμα, τα κανάλια P2X_3 έχουν την



Εικόνα 4.59
 Το ATP απελευθερώνεται από υγιή κύτταρα με εξωκύτωση ή από κατεστραμμένα κύτταρα, μετά τη λύση τους, και παίζει κρίσιμο ρόλο στη διακυτταρική επικοινωνία ενεργοποιώντας ιοντοτροπικούς P2X₁₋₇ (ligand-gated ion channels) αλλά και μεταβιοτροπικούς GPCR υποδοχείς P2Y_{1/2/4/6/11/12/13/14}. Επίσης, η αδενοσίνη, στην οποία το ATP μετατρέπεται εξωκυτταρικά, μπορεί να συνδεθεί στους πουρινεργικούς GPCRs P1.



Εικόνα 4.60
 Α. Οι ιοντοτροπικοί πουρινεργικοί υποδοχείς P2X είναι ομο- ή ετερο-τριμερή κανάλια, τα οποία ανοίγουν μετά τη σύνδεση εξωκυτταρικού ATP στον εξωκυτταρικό βρόχο. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές περιοχές συνδεδεμένες με έναν μεγάλο εξωκυτταρικό βρόχο (280 αμινοξέα), και τις NH₂- και COOH-τελικές περιοχές στο κυτταρόπλασμα. Στον μεγάλο εξωκυτταρικό βρόχο υπάρχουν 10 καλά συντηρημένα κατάλοιπα Cys, τα οποία δημιουργούν 5 δισουλφιδικούς δεσμούς, και στο NH₂-τελικό άκρο υπάρχει θέση για φωσφορυλίωση από την κινάση PKC. Β. Κρυσταλλική δομή του υποδοχέα P2X₄ του zebrafish, όπου διακρίνεται η ομοιότητα της μιας υπομονάδας με το σχήμα του δελφινιού. [41]

Εικόνα 4.61
Οι ιοντοτροπικοί υποδοχείς P2X₁ βρίσκονται στα λεία μυϊκά κύτταρα του σπερματικού πόρου. Η απελευθέρωση από τους συμπαθητικούς νευρώνες ATP και αδρεναλίνης, οι οποίοι δρουν ως συν-διεγέρτες, προκαλεί τη σύσπαση των κυττάρων μέσω της αύξησης των ιόντων Ca²⁺. Το Ca²⁺ μέσω της καλμοδουλίνης ενεργοποιεί την κίνηση της ελαφριάς αλυσίδας της μυοσίνης (MLCK), η οποία φωσφορυλιώνει την MLC προκαλώντας σύσπαση. Ταυτόχρονα, η αδρεναλίνη μέσω των α₁-ARs και της Gα_q ενεργοποιεί την PLCβ, η οποία παράγει IP₃ και DAG ενεργοποιώντας την PKC. Η PKC φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί τον αναστολέα της MLCP, CPI-17, εμποδίζοντας την αποφωσφορυλίωση της MLC. Στην εικόνα διακρίνεται, επίσης, ο ρυθμιστικός μηχανισμός της διάρκειας της σύσπασης, όπου το Ca²⁺ ανοίγει Ca²⁺-εξαρτώμενα κανάλια K⁺ (BK_{Ca}) προκαλώντας υπερπόλωση του κυττάρου και κλείσιμο των L-τύπου καναλιών Ca²⁺. [57]

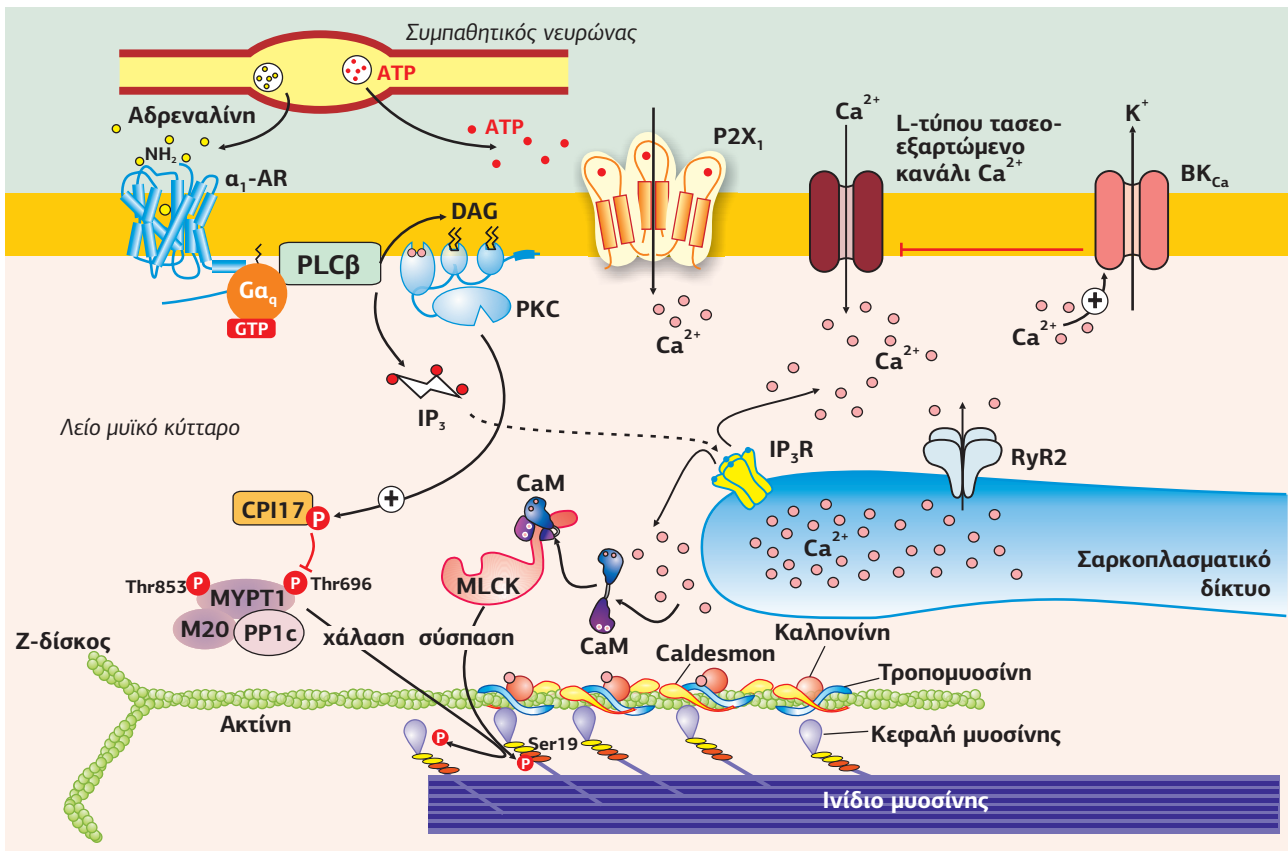
ιδιότητα να απενεργοποιούνται γρήγορα (ακόμα και κάτω από παρατεταμένη διέγερση), σε αντίθεση με τα κανάλια P2X₇, τα οποία εμπλέκονται στον έλεγχο της κυτταρικής αύξησης και παραμένουν ενεργά για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Ρόλος των ιοντοτροπικών πουρινεργικών υποδοχέων

Οι υποδοχείς P2X₁ βρίσκονται στα λεία μυϊκά κύτταρα του σπερματικού πόρου που νευρώνονται από το συμπαθητικό νευρικό σύστημα, το οποίο απελευθερώνει ATP και αδρεναλίνη (δρουν ως συν-διεγέρτες) προκαλώντας τη σύσπαση των κυττάρων μέσω της αύξησης των ιόντων Ca²⁺. Το Ca²⁺ μέσω της καλμοδουλίνης ενεργοποιεί την κίνηση της ελαφριάς αλυσίδας της μυοσίνης (MLCK, Myosin Light-Chain Kinase), η οποία φωσφορυλιώνει την ελαφριά αλυσίδα της μυοσίνης (MLC) επάγοντας τη σύσπαση των λείων μυϊκών κυττάρων (Εικόνα 4.61, βλ. Εικόνα 5.77). Ποντίκια στα οποία απουσιάζει το γονίδιο των P2X₁ (P2X₁^{-/-}) εμφανίζουν υπογονιμότητα με μειωμένη ποσότητα σπερματοζωαρίων στο σπέρμα, καθώς ο σπερματικός πόρος δεν αποκρίνεται στο ATP. Επίσης, οι υποδοχείς P2X₁ παίζουν σημαντικό ρόλο στη συσσώρευση των αιμοπεταλίων.

Οι υποδοχείς P2X_{2/3} συμμετέχουν στο σηματοδοτικό μονοπάτι της γεύσης (βλ. Εικόνα 2.16) και στη μετάδοση του πόνου. Ο ρόλος του ATP στη μετάδοση της αίσθησης του πόνου είναι καλά τεκμηριωμένος: όταν ο ιστός καταστρέφεται, ενεργοποιείται η φλεγμονώδης αντίδραση, απελευθερώνεται ATP από τα κατεστραμμένα κύτταρα και εκπολώνονται οι αισθητήριοι νευρώνες υπεύθυνοι για τη μετάδοση του πόνου (βλ. σελ. 221). Ποντίκια στα οποία απουσιάζει το γονίδιο P2X₃ (P2X₃^{-/-}) εμφανίζουν μειωμένη αντίληψη του πόνου. Οι P2X₂ συμμετέχουν, επίσης, στην εντερική νευροδιαβίβαση ενεργοποιώντας την περίσταση του λεπτού εντέρου.

Οι υποδοχείς P2X₄ βρίσκονται στο ενδοθήλιο των αγγείων. Ποντίκια στα οποία απουσιάζει το γονίδιο P2X₄ είναι υπερτασικά και έχουν μικρής διαμέτρου αρτηρίες. Επίσης, οι P2X₄ εκφράζονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις στον ιππόκαμπο, όπου παίζουν σημαντικό ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα και στη δημιουργία της



μακροχρόνιας ενδυνάμωσης, LTP (Long term potentiation). Ενεργοποίηση των **P2X₇** οδηγεί στην απελευθέρωση προφλεγμονωδών κυτοκινών, κυρίως της IL-1 β , από τα μακροφάγα (βλ. σελ. 221). Αναστολείς των P2X₇ έχουν ευεργετική δράση στη φλεγμονή στη ρευματοειδή αρθρίτιδα.

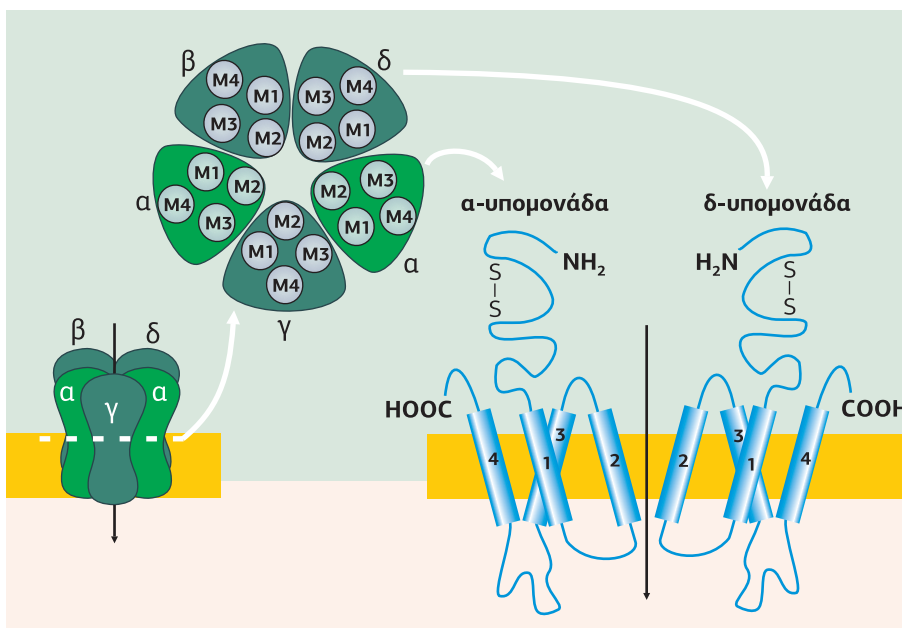
4.2

Οικογένεια υποδοχέων καναλιών ιόντων της οικογένειας Cys-βρόχου

Η υπεροικογένεια των υποδοχέων Cys-βρόχου περιέχει προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια κατιόντων (νικοτινικός υποδοχέας nAChR, σεροτονεργικός 5-HT₃ και κανάλια που ενεργοποιούνται από Zn²⁺ ZAC-Zinc Activated ion Channels) και κανάλια ανιόντων (γ -αμινοβουτυρικού οξέος GABA_A, GABA_C και γλυκίνης). Οι 5 υπομονάδες από τις οποίες αποτελούνται οι υποδοχείς κανάλια αυτής της οικογένειας παρουσιάζουν ομοιογενή δομή: είναι γλυκοπρωτεΐνες με 4 διαμεμβρανικές περιοχές, έναν εξωκυτταρικό και δύο ενδοκυτταρικούς βρόχους που συνδέουν μεταξύ τους τις διαμεμβρανικές περιοχές με το NH₂- και COOH-τελικό τους άκρο εξωκυτταρικά.

Χαρακτηριστική δομή των υποδοχέων καναλιών Cys-βρόχου

1. Διαμεμβρανικές α -έλικες. Η κάθε υπομονάδα έχει 4 διαμεμβρανικές α -έλικες (20-30 αμινοξέων η καθεμία). Οι συνολικά 20 διαμεμβρανικές περιοχές σταθεροποιούν τα τοιχώματα του καναλιού. Σε αντίθεση με τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια, στα οποία το στόμιο του πόρου του καναλιού σχηματίζεται από έναν κοντό P- (permeability: διαπερατότητα) βρόχο, ο οποίος βυθίζεται αλλά δεν διαπερνά τη μεμβράνη και λειτουργεί ως φίλτρο εξειδίκευσης, στα προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια Cys-βρόχου ο πόρος του καναλιού (άνοιγμα 5,6 Å) σχηματίζεται κυρίως από την TM2 περιοχή κάθε υπομονάδας και λιγότερο από τις TM1 και TM3 (**Εικόνα 4.62**). Οι περιοχές αυτές παρουσιάζουν μηδενικό φορτίο, ώστε η μεταφορά ιόντων διαμέσου της μεμβράνης να γίνεται σ' ένα μη φορτισμένο περιβάλλον. Οι TM1 περιοχές όλων των υπομονάδων περιέχουν μια προλίνη (Pro) που είναι υπεύθυνη να κρατά κλειστό το κανάλι απουσία νευροδιαβιβαστή. Η απουσία του P-βρόχου, υπεύθυνου για την εξειδίκευση των κατιόντων που διαπερνούν το κανάλι είναι πιθανώς η αιτία της έλλειψης εξειδίκευσης των προσδετο-εξαρτώμενων καναλιών.

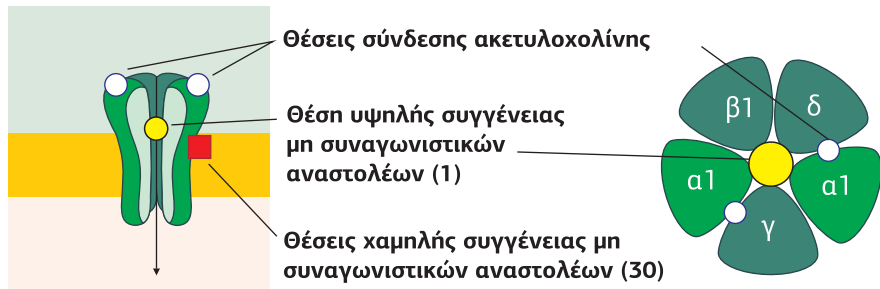


Εικόνα 4.62

Τριδιάστατη αναπαράσταση του νικοτινικού υποδοχέα κανάλι. Ο νικοτινικός υποδοχέας αποτελείται από πέντε υπομονάδες. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από α. 4 διαμεμβρανικές περιοχές (M1-M4), καθεμία από τις οποίες αποτελείται από 20-30 αμινοξέα διατεταγμένα σε α -έλικα δημιουργώντας ένα είδος κυλίνδρου, β. ένα μεγάλο NH₂-τελικό άκρο με το χαρακτηριστικό δεσμό S-S, ανάμεσα σε δύο κυστεΐνες που δημιουργεί τον Cys-βρόχο και γ. ένα κοντό εξωκυτταρικό COOH-άκρο. Διακρίνεται, επίσης, η διατομή του νικοτινικού υποδοχέα, όπου φαίνεται ότι οι M2 διαμεμβρανικές περιοχές όλων των υπομονάδων δημιουργούν τα τοιχώματα του πόρου του καναλιού.

Εικόνα 4.63

Θέσεις σύνδεσης στο πενταμερές μόριο του νικοτινικού υποδοχέα. Οι δύο θέσεις σύνδεσης της ακετυλοχολίνης βρίσκονται εξωκυτταρικά στο NH₂-τελικό άκρο των α-υπομονάδων, ανάμεσα στην α₁ και γ υπομονάδα και ανάμεσα στην α₁ και δ. Οι μη συναγωνιστικοί αναστολείς συνδέονται σε μια θέση υψηλής συγγένειας στον πόρο του καναλιού, αλλά και σε άλλες 30 περίπου θέσεις σύνδεσης, μικρότερης συγγένειας που βρίσκονται εκτός των τοιχωμάτων του καναλιού. [23]



Στον νικοτινικό υποδοχέα οι TM2 περιοχές όλων των υπομονάδων περιέχουν αμινοξέα (αSer248, βSer254, γSer256, δSer262), τα οποία δημιουργούν αλλοστερικές θέσεις σύνδεσης στον πόρο του καναλιού. Στις θέσεις αυτές δεν δεσμεύεται ο νευροδιαβιβαστής, αλλά οι μη συναγωνιστικοί ανταγωνιστές του (non-competitive blockers). Οι αλλοστερικοί ανταγωνιστές μπλοκάρουν το άνοιγμα του καναλιού χωρίς να συναγωνίζονται τη δράση του ενδογενούς νευροδιαβιβαστή (ακετυλοχολίνη), εφόσον η θέση σύνδεσής τους είναι διαφορετική από τη θέση σύνδεσης του ενδογενούς μορίου και των συναγωνιστικών ανταγωνιστών, που βρίσκεται στο NH₂-τελικό άκρο (**Εικόνα 4.63**).

2. Εξωκυτταρικοί και ενδοκυτταρικοί βρόχοι. Ο εξωκυτταρικός βρόχος που ενώνει τις διαμεμβρανικές περιοχές TM2 και TM3 περιέχει φορτισμένα αμινοξέα που δημιουργούν το στόμιο του καναλιού: θετικά φορτισμένα, όσον αφορά τον υποδοχέα GABA_A, ο οποίος είναι κανάλι ιόντων Cl⁻, και αρνητικά φορτισμένα, όσον αφορά τον νικοτινικό υποδοχέα, ο οποίος είναι κανάλι ιόντων Na⁺/Ca²⁺. Τα αμινοξέα αυτά παίζουν τον ρόλο αφενός ενός προ-φίλτρου ιόντων και αφετέρου αυξάνουν τη δύναμη προώθησης (driving force) των ιόντων διαμέσου του καναλιού.

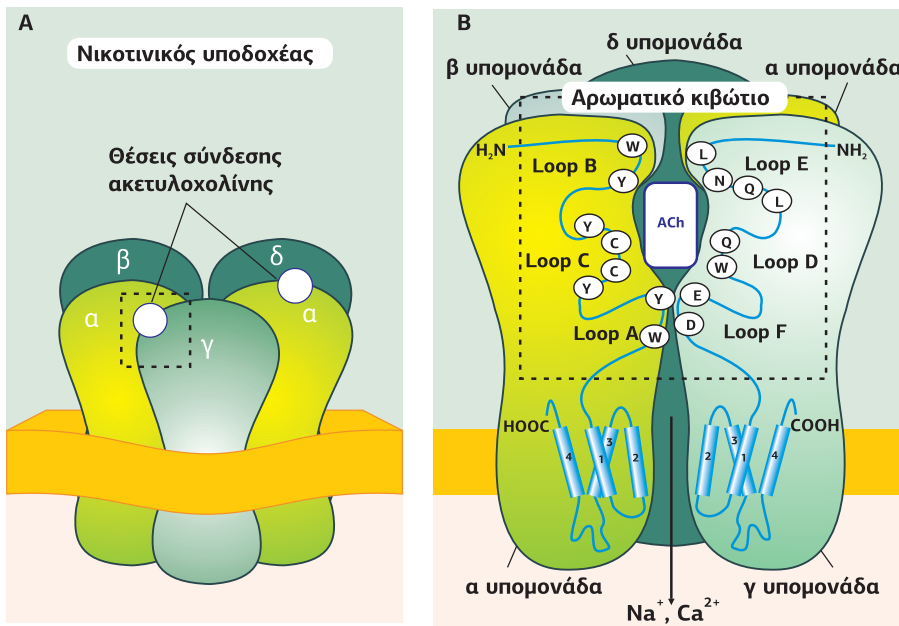
Ο ενδοκυτταρικός βρόχος, που ενώνει μεταξύ τους τις διαμεμβρανικές περιοχές TM3 και TM4 είναι μεγάλος και περιέχει θέσεις φωσφορυλίωσης από την κινάση PKA, η οποία εξαρτάται από το cAMP. Η φωσφορυλίωση του υποδοχέα παίζει σημαντικό ρόλο στην απενεργοποίησή του.

3. Το NH₂-τελικό άκρο. Το NH₂-τελικό άκρο είναι μια μεγάλη εξωκυτταρική περιοχή με μια α-έλικα και 10 αντιπαράλληλους β-κλώνους, η οποία περιέχει δύο κυστεΐνες (Cys139 και Cys153), που δημιουργούν έναν Cys-Cys βρόχο με τη βοήθεια δεσμού S-S, ο οποίος είναι χαρακτηριστικός σε όλους τους υποδοχείς αυτής της κατηγορίας. Το NH₂-τελικό άκρο περιέχει, επίσης, την απαραίτητη πληροφορία για την ένωση των υπομονάδων του υποδοχέα, που συντελείται στο ενδοπλασματικό δίκτυο. Στον νικοτινικό υποδοχέα, για παράδειγμα, η πληροφορία βρίσκεται στο NH₂-τελικό άκρο των α, γ και δ υπομονάδων, οι οποίες ενώνονται αρχικά ανά δύο (πρώτα α-δ και μετά α-γ). Στη συνέχεια, τα διμερή ενώνονται με τη β-υπομονάδα δημιουργώντας τον πενταμερή νικοτινικό υποδοχέα (α₂βγδ).

Το NH₂-άκρο περιέχει τη θέση σύνδεσης του νευροδιαβιβαστή. Στον νικοτινικό υποδοχέα των μυϊκών κυττάρων (α₂βγδ) οι δύο θέσεις σύνδεσης του νευροδιαβιβαστή βρίσκονται μεταξύ των α/γ και α/δ υπομονάδων, ενώ στους υποδοχείς GABA_{A/C} (α₂β₂γ) μεταξύ των α/β υπομονάδων. Η δέσμευση του νευροδιαβιβαστή στις θέσεις αυτές προκαλεί αλλαγή στη διαμόρφωση του υποδοχέα και ανοίγει το κανάλι ιόντων, το οποίο είναι κλειστό όταν το κύτταρο βρίσκεται σε κατάσταση ηρεμίας. Το 2001, έρευνες στο εργαστήριο του Jean-Pierre Changeux στο Institut Pasteur έδειξαν την ύπαρξη ενός **“αρωματικού κιβώτιου”** το οποίο διαμορφώνει την περιοχή δέσμευσης του αγωνιστή (συγκεκριμένα της ACh). Στο αρωματικό κιβώτιο συμμετέχουν αρωματικά αμινοξέα, κυρίως της NH₂-τελικής περιοχής των α-υπομονάδων, αλλά και των γ και δ, υποδεικνύοντας ότι η σύνδεση της ACh γίνεται στο μεσοδιάστημα ανάμεσα στις α/γ και α/δ υπομονάδες (**Εικόνα 4.64**).

Στο NH₂-τελικό άκρο ανάμεσα στις α/β υπομονάδες των υποδοχέων GABA_A βρίσκονται οι δύο θέσεις σύνδεσης του ενδογενούς προσδέτη GABA, ενώ στο NH₂-

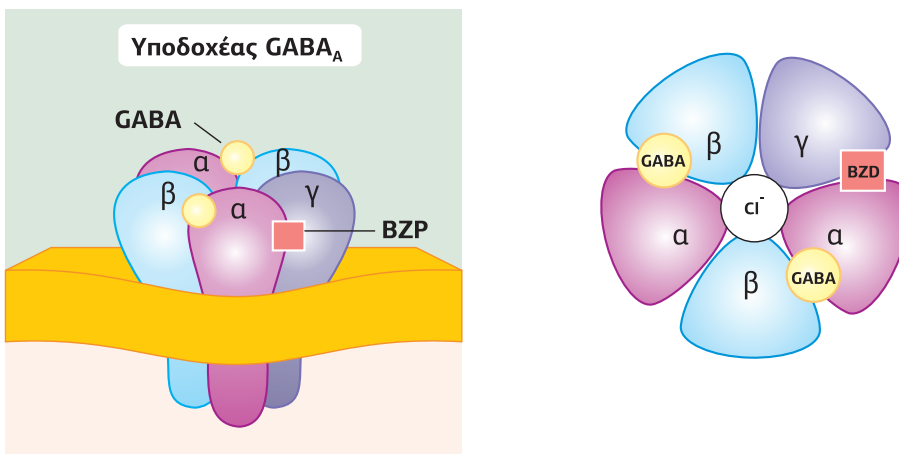
Μη συναγωνιστικοί αναστολείς ή αλλοστερικοί αναστολείς ονομάζονται οι αναστολείς, οι οποίοι αντί να συναγωνίζονται με τον νευροδιαβιβαστή για τη δέσμευσή τους στη θέση σύνδεσης του νευροδιαβιβαστή, δεσμεύονται σε μια διαφορετική θέση στον υποδοχέα. Η δέσμευση των μη συναγωνιστικών αναστολέων στις ειδικές θέσεις σύνδεσης προκαλεί αλλαγή στη διαμόρφωση του υποδοχέα και, συνεπώς, μεταβολή της συγγένειας του υποδοχέα για την ορμόνη (K_D). Η θέση ή οι θέσεις σύνδεσης ονομάζονται αλλοστερικές θέσεις σύνδεσης και ο υποδοχέας αλλοστερικός υποδοχέας. Ο νικοτινικός υποδοχέας είναι το κλασικότερο παράδειγμα αλλοστερικού υποδοχέα.



Εικόνα 4.64
Θέση σύνδεσης της ακετυλοχολίνης. Α. Τριδιάστατη δομή του νικοτινικού υποδοχέα, όπου φαίνονται οι θέσεις σύνδεσης της ακετυλοχολίνης ανάμεσα στην α και στη δ ή γ υπομονάδα. [93]
 Β. Η ακετυλοχολίνη συνδέεται σε δύο θέσεις, που χαρακτηρίζονται ως αρωματικά κιβώτια, τα οποία δημιουργούνται ανάμεσα στην α/γ και α/δ υπομονάδα. Το αρωματικό κιβώτιο αποτελείται από τα αμινοξέα των υπομονάδων α και γ ή δ. Διακρίνεται η ACh, καθώς και οι πολλαπλές αναδιπλώσεις-βρόχοι (Loops A-F) των δύο NH₂-τελικών άκρων.

τελικό άκρο μεταξύ των υπομονάδων α και γ βρίσκεται η αλλοστερική θέση σύνδεσης των βενζοδιαζεπινών (Εικόνα 4.65). Η σύνδεση των βενζοδιαζεπινών στην αλλοστερική θέση προκαλεί αλλαγή στη διαμόρφωση του υποδοχέα και αύξηση της συγγένειας του GABA για τον υποδοχέα. Η αλλοστερική δράση των βενζοδιαζεπινών στον υποδοχέα GABA_A είναι πολύ σημαντική λόγω της μεγάλης κλινικής εφαρμογής των ουσιών αυτών στην καταστολή του άγχους, καθώς ο υποδοχέας GABA_A είναι ένας ανασταλτικός υποδοχέας και η ενεργοποίησή του οδηγεί σε είσοδο Cl⁻ και, συνεπώς, σε υπερπόλωση του κυττάρου.

4. Το COOH-τελικό άκρο. Σε αντίθεση με τους υποδοχείς που ενώνονται με μία G-πρωτεΐνη, οι οποίοι έχουν μεγάλη ενδοκυτταρική COOH-τελική περιοχή, στους υποδοχείς κανάλια Cys-βρόχου η COOH-τελική περιοχή είναι πολύ μικρή και βρίσκεται στο εξωτερικό του κυττάρου (βλ. Εικόνα 4.62).



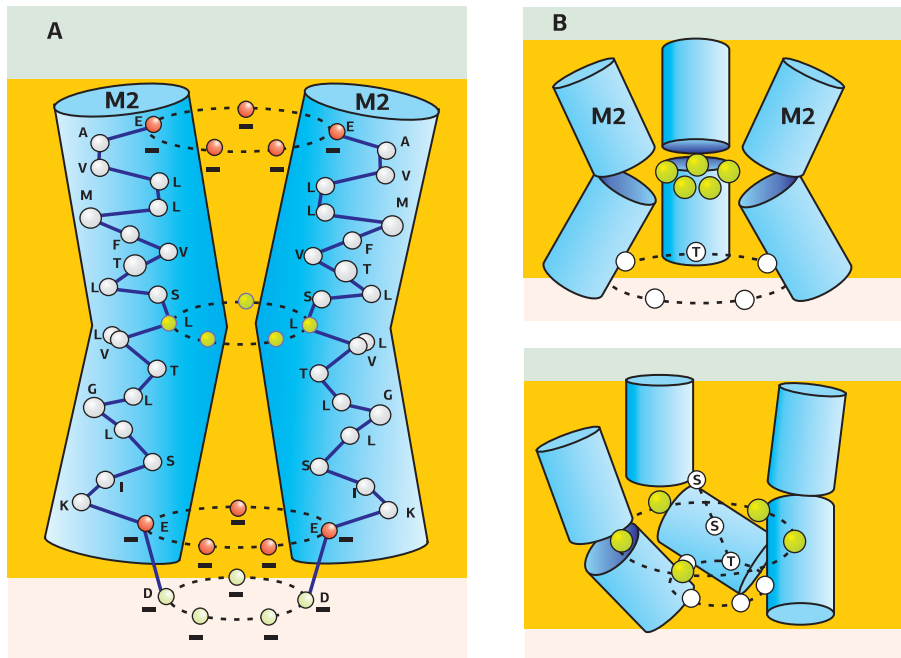
Εικόνα 4.65
Θέση σύνδεσης του GABA και των βενζοδιαζεπινών στον υποδοχέα GABA_A. Ο υποδοχέας GABA_A σχηματίζεται από πέντε υπομονάδες (α₂β₂γ), καθεμία από τις οποίες αποτελείται από τέσσερις διαμεμβρανικές α-έλικες. Η M2 α-έλικα είναι υπεύθυνη για τη δημιουργία του πόρου του καναλιού. Ο υποδοχέας GABA_A διαθέτει δύο θέσεις σύνδεσης του ενδογενούς προσδέτη γ-αμινοβουτυρικού οξέ (GABA) στο εξωκυτταρικό NH₂-τελικό άκρο ανάμεσα στις α και β υπομονάδες, καθώς και μια αλλοστερική θέση σύνδεσης των βενζοδιαζεπινών (BZD) στο NH₂-τελικό άκρο ανάμεσα στην α και γ υπομονάδα. [48]

Μηχανισμός ενεργοποίησης του νικοτινικού υποδοχέα. Μετάπτωση από την ανοικτή στην κλειστή διαμόρφωση

Στην κλειστή κατάσταση οι έλικες TM2 είναι αναδιπλωμένες με μία κάμψη προσανατολισμένη προς το κέντρο του πόρου. Πέντε “ογκώδη” κατάλοιπα λευκίνης (ένα σε κάθε υπομονάδα) βρίσκονται στο κέντρο αυτής της κάμψης και είναι υπεύθυνα για το κλείσιμο του καναλιού. Κλείνουν το εσωτερικό του πόρου και εμποδίζουν τη

Εικόνα 4.66

A. Διαμόρφωση των M2 ελίκων στην κλειστή κατάσταση.
 Στην κλειστή κατάσταση διακρίνονται με πράσινο πέντε κατάλοιπα λευκίνης (ένα σε κάθε υπομονάδα), τα οποία κλείνουν τον πόρο του καναλιού παρεμποδίζοντας τη μετακίνηση ιόντων. Πάνω και κάτω από το εμπόδιο υπάρχουν αρνητικά φορτισμένα κατάλοιπα (με κόκκινο), τα οποία λειτουργούν ως προφίλτρα για την είσοδο ιόντων.
B. Προσανατολισμός των M2 ελίκων του νικοτινικού υποδοχέα στην ανοιχτή και κλειστή κατάσταση. Διακρίνονται μόνο οι τρεις από τις πέντε M2 έλικες. Κλειστή κατάσταση (επάνω): οι M2 έλικες λυγίζουν στη μέση, τα κατάλοιπα Leu κλείνουν το εσωτερικό του πόρου και εμποδίζουν τη μετακίνηση ιόντων.



Ανοιχτή κατάσταση (κάτω): οι έλικες M2 απομακρύνονται και οι ογκώδεις Leu μετακινούνται από το κέντρο του πόρου. Η αλλαγή διαμόρφωσης προκαλεί τον αναπροσανατολισμό των πολικών αμινοξέων που καλύπτουν το εσωτερικό του πόρου. Τα πολικά αμινοξέα (κατάλοιπα σερίνης και θρεονίνης) προσανατολίζονται πιο κοντά προς το κέντρο του πόρου και δημιουργούν ένα υδρόφιλο κάλυμμα στο εσωτερικό τοίχωμα του πόρου, το οποίο διευκολύνει τη μεταφορά ιόντων. [99]

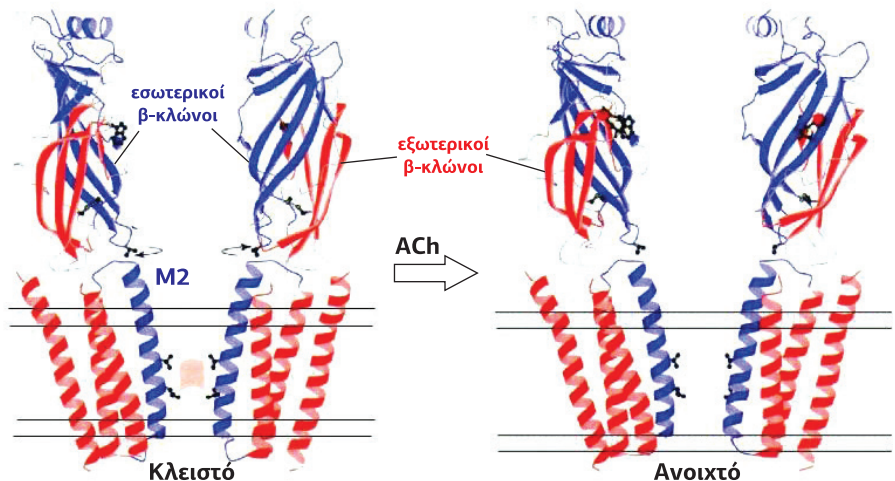
μεταφορά ιόντων. Πάνω και κάτω από το εμπόδιο, δηλαδή τις πέντε λευκίνες (Leu), υπάρχουν αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα, τα οποία λειτουργούν ως προφίλτρα για την είσοδο ιόντων (**Εικόνα 4.66**).

Με τη σύνδεση της ακετυλοχολίνης οι β-κλώνοι του NH₂-τελικού άκρου μετατοπίζονται. Αυτή η αλλαγή μεταδίδεται στο κέντρο του πόρου, όπου προκαλούνται αλλαγές στη διαμόρφωση των M2 α-ελίκων. Οι έλικες M2 περιστρέφονται. Τα κατάλοιπα λευκίνης που κρατούν κλειστό τον πόρο απομακρύνονται από το κέντρο του πόρου και το κανάλι ανοίγει. Επιπλέον, πολικά κατάλοιπα των M2-ελίκων (κατάλοιπα σερίνης και θρεονίνης), που καλύπτουν το εσωτερικό του πόρου, προσανατολίζονται πιο κοντά προς το κέντρο του πόρου, όπου δημιουργούν ένα υδρόφιλο κάλυμμα που αλληλεπιδρά με τον υδρόφοβο σκελετό των θετικά φορτισμένων ιόντων και διευκολύνει τη μεταφορά τους.

Πιο συγκεκριμένα, η σύνδεση της ακετυλοχολίνης στην εξωκυττάρια NH₂-τελική περιοχή οδηγεί σε μετατόπιση των προς τα έξω β-κλώνων φύλλων και περιστροφή 15° κατά τη φορά των δεικτών του ρολογιού των προς τα μέσα β-κλώνων φύλλων της εξωκυττάριας NH₂-τελικής περιοχής των δύο α-υπομονάδων του καναλιού. Η περιστροφή των προς τα μέσα β-κλώνων μεταδίδεται στο κέντρο του πόρου του

Εικόνα 4.67

Αλλαγή διαμόρφωσης στον νικοτινικό υποδοχέα μετά τη σύνδεση της ACh. Στην εικόνα φαίνονται μόνο οι δύο α-υπομονάδες, από τις πέντε υπομονάδες του υποδοχέα. Η πρόσδεση της ACh οδηγεί σε περιστροφή κατά τη φορά του ρολογιού των προς τα μέσα β-κλώνων (με μπλε) της NH₂-τελικής περιοχής. Αυτή η κίνηση της εξωκυττάριας περιοχής μεταφέρεται στην M2 α-έλικα που δημιουργεί τον πόρο, γεγονός που οδηγεί σε σπάσιμο των πλευρικών υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων που δημιουργούνται από τις πέντε Leu και ανοίγει το κανάλι. [73]



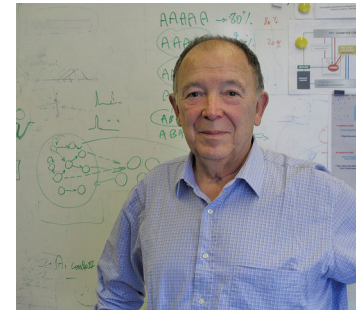
καναλιού, όπου προκαλείται αλλαγή στον προσανατολισμό των M2 ελίκων, με αποτέλεσμα την απομάκρυνση των πέντε καταλοίπων Leu από το κέντρο του πόρου και το άνοιγμα του καναλιού (Εικόνα 4.67).

Ο νικοτινικός υποδοχέας στο ηλεκτρικό όργανο του *Torpedo californica*

Ο νικοτινικός υποδοχέας ήταν ο πρώτος υποδοχέας κανάλι ιόντων που απομονώθηκε από τον Jean-Pierre Changeux το 1970, στο Institut Pasteur Paris, από το ηλεκτρικό όργανο του *Torpedo californica*. Το ηλεκτρικό όργανο αποτελεί το 20% του βάρους του ψαριού και περιέχει πολύ υψηλή συγκέντρωση νικοτινικών υποδοχέων, που αντιστοιχεί σε 15.000 μόρια υποδοχέων/ μm^2 . Συνεπώς, για να απομονωθεί ο υποδοχέας σε καθαρή μορφή απαιτείται μόνο 300 φορές εμπλουτισμός, σε αντίθεση με τον καθαρισμό, για παράδειγμα, των υποδοχέων ινσουλίνης, όπου απαιτείται εμπλουτισμός 500.000 φορές.

Το ηλεκτρικό όργανο του *Torpedo* αποτελείται από παράλληλες στήλες ειδικών κυττάρων που ονομάζονται **ηλεκτροκύτταρα** (electrocytes). Οι στήλες διαχωρίζονται από τις γειτονικές τους με μονωτικό ιστό και εκτείνονται από τη ραχιαία στην κοιλιακή πλευρά του *Torpedo*, εκατέρωθεν της μέσης γραμμής του ψαριού. Τα ηλεκτροκύτταρα εξελίχθηκαν από τα μυϊκά κύτταρα, με τη διαφορά ότι ενώ μπορούν να παράγουν ηλεκτρικά σήματα, δεν συσπώνται (Εικόνα 4.68).

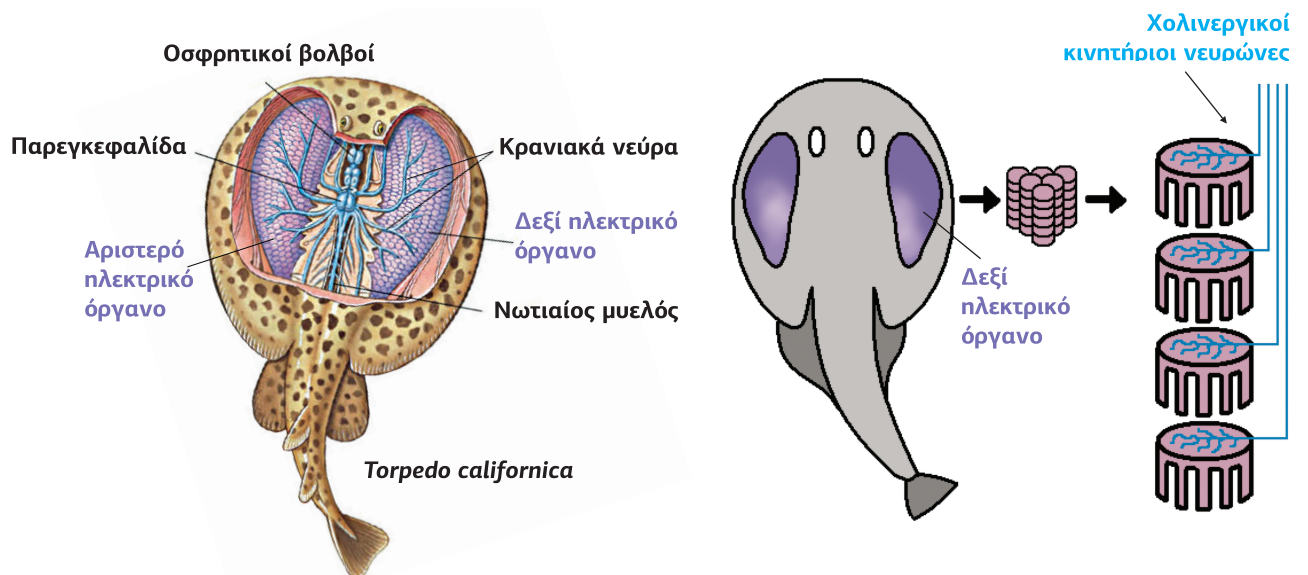
Μία στήλη περιέχει περίπου 3.000 ηλεκτροκύτταρα. Όλα τα ηλεκτροκύτταρα είναι προσανατολισμένα με τον ίδιο τρόπο και είναι πολωμένα, με ραχιαία και κοιλιακή επιφάνεια να εμφανίζουν διαφορετικές ιδιότητες. Η ραχιαία επιφάνεια κάθε ηλεκτροκύτταρου δέχεται νευρικές συνάψεις από χολινεργικούς ηλεκτροκινητήριους νευρώνες και είναι πλούσια σε νικοτινικούς υποδοχείς (αποτελούν το 50% της επιφάνειάς της), καθώς επίσης περιέχει τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και τασσο-εξαρτώμενα L-τύπου κανάλια Ca^{2+} , τα οποία παίζουν ρόλο στην ενίσχυση της εκπόλωσης της μεμβράνης στα +65 mV, μετά τη διέγερση από τους χολινεργικούς νευρώνες. Η πλευρά των ηλεκτροκυττάρων που δέχεται τη νεύρωση περιέχει, επίσης, ανοιχτά κανάλια K^+ που βοηθούν στη δημιουργία του δυναμικού ηρεμίας στα -85 mV. Η κοιλιακή πλευρά των κυττάρων, που δεν δέχεται νευρικές συνάψεις, έχει πολλαπλές αναδιπλώσεις με σκοπό την αύξηση της επιφάνειάς της. Περιέχει κανάλια Cl^- και κανάλια K^+ που διατηρούν το δυναμικό της μεμβράνης συνεχώς στα -85 mV. Περιέχει, επίσης, ATPάσες, αντλίες Na^+/K^+ , που διατηρούν τη βαθμίδωση των ιόντων Na^+ και K^+ που απαιτείται για τη διεγερσιμότητα των ηλεκτροκυττάρων. Τα ηλεκτροκύτταρα σε κατάσταση ηρεμίας περιέχουν υψηλή συγκέντρωση ιόντων K^+ και χαμηλή συγκέντρωση ιόντων Na^+ . Η έξοδος των ιόντων K^+ είναι ελεύθερη, καθώς συγκεκριμένα κανάλια K^+ είναι ανοιχτά, και το δυναμικό ηρεμίας διατηρείται στα -85 mV.



Jean-Pierre Changeux (1936-)

Εικόνα 4.68

Το ηλεκτρικό όργανο του *Torpedo californica* αποτελείται από παράλληλες στήλες ειδικών κυττάρων που ονομάζονται ηλεκτροκύτταρα. Οι στήλες διαχωρίζονται από τις γειτονικές τους με μονωτικό ιστό και εκτείνονται από τη ραχιαία προς την κοιλιακή πλευρά του *Torpedo*, εκατέρωθεν του νωτιαίου μυελού. Όλα τα ηλεκτροκύτταρα είναι προσανατολισμένα με τον ίδιο τρόπο και είναι πολωμένα, με τη ραχιαία επιφάνεια να δέχεται νευρικές συνάψεις από χολινεργικούς ηλεκτροκινητήριους νευρώνες και την κοιλιακή να εμφανίζει πολλαπλές αναδιπλώσεις.



Όταν το Torpedo αποφασίζει να προκαλέσει μια ισχυρή ηλεκτρική εκφόρτιση, οι ηλεκτροκινητήριοι νευρώνες απελευθερώνουν όλοι, ταυτόχρονα, ακετυλοχολίνη (ACh), η οποία διεγείρει τους νικοτινικούς υποδοχείς κανάλια των ηλεκτροκυττάρων. Τα κανάλια ανοίγουν, εισέρχονται ιόντα Na^+ και εξέρχονται ιόντα K^+ , προκαλώντας μια μικρή εκπόλωση της πλευράς της μεμβράνης που δέχεται τη νευρώση. Η εκπόλωση αυτή είναι ικανή να ανοίξει τα τάση-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και στη συνέχεια τα L-τύπου κανάλια Ca^{2+} , που προκαλούν μια ισχυρή εκπόλωση έως +65 mV. Σε αυτήν τη χρονική διάρκεια το δυναμικό της μεμβράνης, η οποία δεν δέχεται νευρώση, παραμένει στα -85 mV, γιατί δεν περιέχει κανάλια Na^+ ούτε Ca^{2+} που να επιτρέπουν την ενίσχυση της εκπόλωσης. Ως αποτέλεσμα, κατά τη διάρκεια της εκπόλωσης για 1-2 milliseconds, η διαφορά δυναμικού ανάμεσα στη ραχιαία και στην κοιλιακή πλευρά του ηλεκτροκυττάρου φτάνει τα 150 mV, ενώ κατά τη διάρκεια της ηρεμίας η διαφορά είναι 0 mV (Εικόνα 4.69).

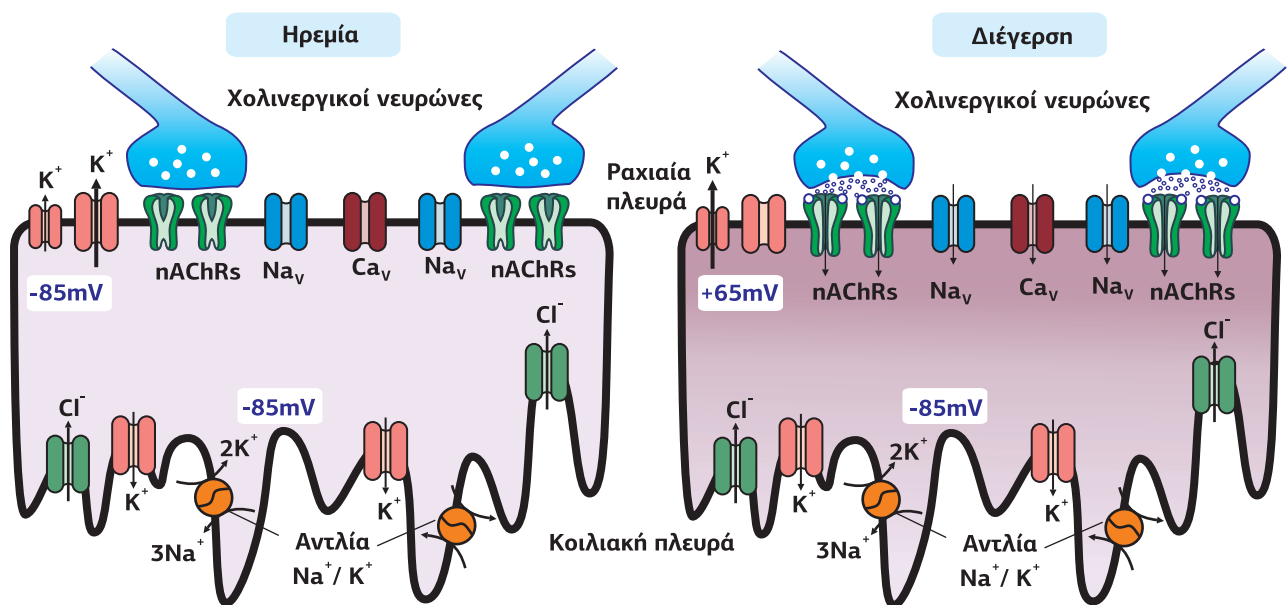
Εικόνα 4.69

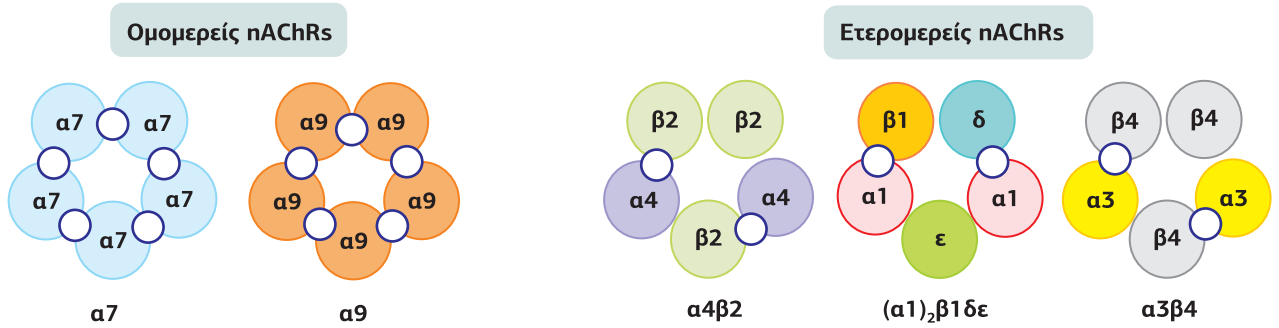
A. Σε κατάσταση ηρεμίας τα ηλεκτροκύτταρα περιέχουν υψηλή συγκέντρωση ιόντων K^+ και χαμηλή συγκέντρωση ιόντων Na^+ , η οποία διατηρείται λόγω της αντλίας Na^+/K^+ . Η έξοδος των ιόντων K^+ είναι ελεύθερη και το δυναμικό ηρεμίας διατηρείται στα -85 mV. B. Κατά τη διέγερση απελευθερώνεται στη ραχιαία πλευρά των ηλεκτροκυττάρων ακετυλοχολίνη (ACh), η οποία διεγείρει τους νικοτινικούς υποδοχείς. Τα κανάλια ανοίγουν, εισέρχεται Na^+ και εξέρχεται K^+ , προκαλώντας μια μικρή εκπόλωση, η οποία ανοίγει τα τάση-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και Ca^{2+} L-τύπου, που προκαλούν μια ισχυρή εκπόλωση έως +65 mV. Σε αυτήν τη χρονική διάρκεια η πλευρά του κυττάρου που δεν δέχεται νευρώση παραμένει στα -85 mV, γιατί δεν περιέχει κανάλια Na^+ ούτε Ca^{2+} που να επιτρέπουν την εκπόλωση. Ως αποτέλεσμα, η διαφορά δυναμικού ανάμεσα στη ραχιαία και στην κοιλιακή πλευρά κατά τη διάρκεια της εκπόλωσης, για 1-2 msec, φτάνει τα 150 mV. [8]

Τα ηλεκτρικά όργανα παράγουν ισχυρές ηλεκτρικές κενώσεις μεγαλύτερες από 500 V. Για να επιτευχθεί η άθροιση των δυναμικών των ηλεκτροκυττάρων της κάθε στήλης, πρέπει οι εκπολώσεις τους να είναι συγχρονισμένες την ίδια χρονική στιγμή. Αυτός ο συγχρονισμός επιτυγχάνεται εάν ο νευρικός παλμός φτάσει ταυτόχρονα σε όλα τα ηλεκτροκύτταρα, έχοντας να διασχίσει την απόσταση από τον εγκέφαλο έως το πιο απομακρυσμένο ηλεκτροκύτταρο. Για να λυθεί το θέμα της διαφορετικής απόστασης που έχει να διανύσει το ηλεκτρικό σήμα, αυτό μεταφέρεται με διαφορετική ταχύτητα. Έτσι οι νευρώνες που νευρώνουν τα πιο απομακρυσμένα ηλεκτροκύτταρα έχουν νευράξονες με μεγαλύτερη διάμετρο, ώστε το δυναμικό δράσης να μεταφέρεται πιο γρήγορα και να φτάνει ταυτόχρονα. Επειδή τα ηλεκτροκύτταρα διατάσσονται σε σειρά, οι αλλαγές του δυναμικού τους είναι αθροιστικές. Μία στήλη που περιέχει 3.000 ηλεκτροκύτταρα, για παράδειγμα, θα δημιουργήσει 450 V (150 mV x 3.000). Όσο περισσότερες στήλες διεγείρονται τόσο μεγαλύτερη είναι η συνολική ροή ρεύματος.

Σύσταση των υπομονάδων στους νικοτινικούς υποδοχείς

Στα θηλαστικά οι νικοτινικοί υποδοχείς ταξινομούνται σε δύο υποτύπους με βάση τις θέσεις όπου εκφράζονται: στους νικοτινικούς υποδοχείς των σκελετικών μυών (στη νευρομυϊκή σύναψη) και στους νικοτινικούς υποδοχείς του νευρικού συστήματος (κεντρικού και περιφερικού). Ανάλογα με τη θέση και τον συγκεκριμένο ρόλο που επιτελούν, η σύσταση των υπομονάδων των νικοτινικών υποδοχέων διαφέρει. Οι νικοτινικοί υποδοχείς των μυϊκών κυττάρων αποτελούνται από τις υπομονάδες





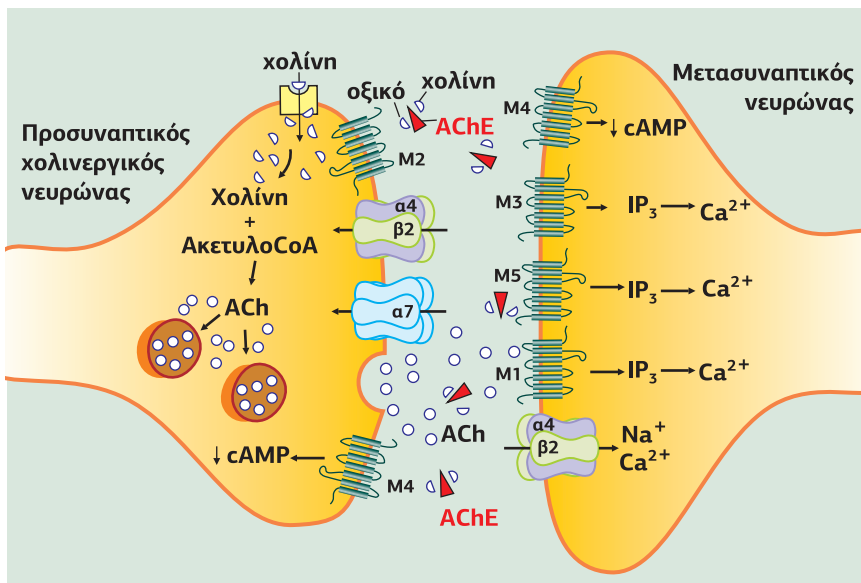
$(\alpha 1)_2\beta 1\delta\epsilon$ στους ενήλικες, ενώ στα έμβρυα από $(\alpha 1)_2\beta 1\delta\gamma$. Η αντικατάσταση της υπομονάδας γ από την ϵ ξεκινά αμέσως μετά τη γέννηση. Οι νευρικοί νικοτινικοί υπότυποι είναι είτε ομομερείς $(\alpha 7)_5$, $(\alpha 8)_5$ ή $(\alpha 9)_5$ είτε δημιουργούνται από ετερομερείς συνδυασμούς 14 υπομονάδων: π.χ. $(\alpha 3)_2(\beta 4)_3$ (συναντώνται στα γάγγλια του ΠΝΣ), $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$ (συναντώνται στο ΚΝΣ). Οι ομομερείς υποδοχείς, καθώς αποτελούνται από 5 α-υπομονάδες, έχουν και 5 θέσεις σύνδεσης της ακετυλοχολίνης (**Εικόνα 4.70**).

Στη νευρομυϊκή σύναψη ο ρόλος των νικοτινικών υποδοχέων έχει ήδη αναλυθεί (βλ. σσ.142-143, **Εικόνα 4.10**). Στον εγκέφαλο οι νικοτινικοί υποδοχείς είναι κυρίως προσυναπτικοί ομόλογοι (στις απολήξεις χολινεργικών νευρώνων) ή ετερόλογοι (σε απολήξεις μη χολινεργικών νευρώνων, κυρίως γλουταμινικών, ντοπαμινεργικών κ.λπ.) (**Εικόνα 4.71**). Η ενεργοποίηση των προσυναπτικών nAChRs οδηγεί στην είσοδο ιόντων Ca^{2+} στο συναπτικό άκρο και, κατά συνέπεια, στην αύξηση της απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών, όπως η ακετυλοχολίνη, το γλουταμινικό, η νοραδρεναλίνη, η ντοπαμίνη και το γ -αμινοβουτυρικό οξύ (**Εικόνα 4.71** και **4.72**). Νικοτινικοί υποδοχείς βρίσκονται, όμως, και σε σώματα και δενδρίτες μετασυναπτικών νευρώνων, όπου δημιουργούν ένα διεγερτικό μετασυναπτικό δυναμικό, όπως στα σώματα των συμπαθητικών (NA) και παρασυμπαθητικών (ACh) μεταγαγγλιακών νευρώνων στο ΠΝΣ.

Οι nAChRs στο ΚΝΣ συμμετέχουν σε λειτουργίες, όπως η μνήμη και η μάθηση (μέσω της αύξησης της απελευθέρωσης του γλουταμινικού), η ευχαρίστηση (μέσω της αύξησης της απελευθέρωσης της ντοπαμίνης), το άγχος και ο κεντρικός έλεγχος του πόνου (μέσω της ενεργοποίησης των μετασυναπτικών nAChRs).

Εικόνα 4.70

Οι νικοτινικοί υποδοχείς μπορεί να είναι είτε ομομερείς, όπως οι $(\alpha 7)_5$, $(\alpha 9)_5$, οι οποίοι εκφράζονται μόνο στο νευρικό σύστημα, είτε ετερομερείς, όπως οι $(\alpha 3)_2(\beta 4)_3$ στα γάγγλια του ΠΝΣ, $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$ στο ΚΝΣ ή $(\alpha 1)_2\beta 1\delta\epsilon$ στους σκελετικούς μύς των ενηλίκων. Με άσπρο κύκλο συμβολίζονται οι θέσεις σύνδεσης του νευροδιαβιβαστή (5 στους ομομερείς και 2 στους ετερομερείς). [42]

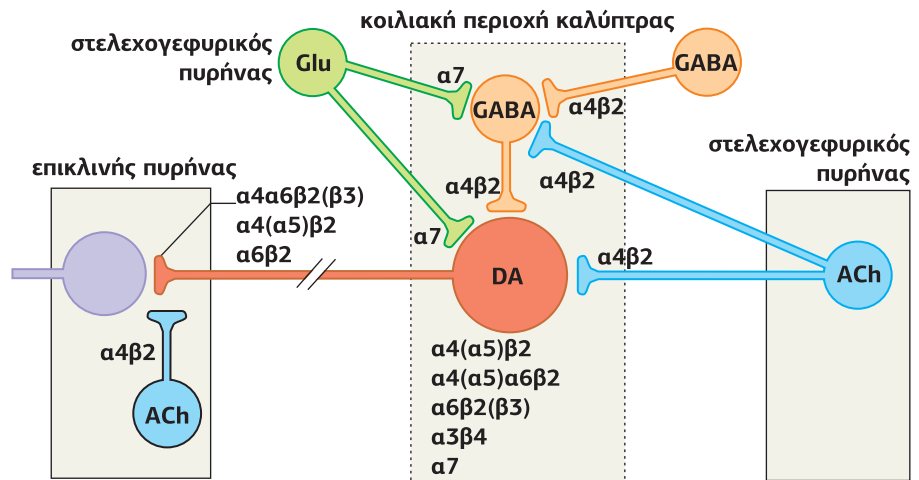


Εικόνα 4.71

Διακρίνεται μια χολινεργική σύναψη, όπου οι νικοτινικοί υποδοχείς είναι προσυναπτικοί ομόλογοι $(\alpha 7)_5$ και $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$, δηλαδή βρίσκονται στο προσυναπτικό άκρο του χολινεργικού νευρώνα και αυξάνουν την απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης, συμμετέχοντας στη συναπτική πλαστικότητα, αλλά και μετασυναπτικοί $(\alpha 4)_2(\beta 2)_3$. Ρόλο προσυναπτικών αυτοϋποδοχέων παίζουν και οι μουσκαρινικοί M2 και M4, οι οποίοι όντας συνδεδεμένοι μέσω μιας $G_{\alpha i}$ -πρωτεΐνης με μια αδενυλική κυκλάση (AC), μειώνουν την παραγωγή cAMP και την απελευθέρωση της ακετυλοχολίνης. [51]

Εικόνα 4.72

Ο ρόλος των προσυναπτικών νικοτινικών υποδοχέων στον έλεγχο της απελευθέρωσης νευροδιαβιβαστών, όπως η ακετυλοχολίνη (ACh), η ντοπαμίνη (DA), το γλουταμινικό (Glu) και το GABA. Στην εικόνα διακρίνεται η εξειδίκευση της δράσης των νικοτινικών υποδοχέων, η οποία στηρίζεται στη διαφορετική σύσταση των υπομονάδων ανάλογα με τη θέση τους. [1]



Νικοτινικοί nAChRs: Συνεξέλιξη και σχέσεις θηράματος-θηρευτή

Η αρχαιότητα ενός βιολογικού συστήματος και η σημασία του για την επιβίωση μπορεί να εκτιμηθεί εν μέρει από το πόσο πολλοί θηρευτές το χρησιμοποιούν ως εργαλείο για τη λήψη τροφής είτε ως μέσο για την προστασία τους από άλλους θηρευτές. Οι nAChRs αποτελούν εξαιρετικούς στόχους για τοξίνες, καθώς παίζουν έναν κεντρικό ρόλο στη ρύθμιση λειτουργιών, σημαντικών για την επιβίωση από τη θήρευση, όπως ο έλεγχος της σύσπασης των σκελετικών μυών και η λειτουργία του αυτόνομου νευρικού συστήματος. Επιπλέον, η βασική δομή της θέσης σύνδεσης της ακετυλοχολίνης έχει διατηρηθεί με εξαιρετικά μικρές μεταβολές κατά τη διάρκεια της εξέλιξης, καθιστώντας την έναν εξαιρετικό στόχο για τοξίνες, οι οποίες μπορεί να δράσουν ως ισχυροί αγωνιστές ή ανταγωνιστές.

Η πιο γνωστή τοξίνη που στοχεύει τους νικοτινικούς υποδοχείς είναι η **νικοτίνη**, η οποία παράγεται κυρίως από το φυτό του καπνού αλλά και από άλλα 66 φυτά (μελιτζάνα, ντομάτα, πατάτα, πράσινη πιπεριά, κ.λπ.) ως αμυντικός μηχανισμός εναντίον της θήρευσης. Ενώ γνωρίζουμε τη νικοτίνη ως το δραστικό συστατικό του καπνού, ο αρχικός της ρόλος ήταν η προστασία των φυτών έναντι των αρπακτικών εντόμων. Αυτός ο ρόλος είναι τόσο αποτελεσματικός, ώστε χρησιμοποιήθηκε ως φυτοφάρμακο σε όλο τον κόσμο έως τα μέσα της δεκαετίας του 1960, αλλά λόγω υψηλής τοξικότητας η χρήση της απαγορεύτηκε. Μόνο ένα έντομο αποφεύγει τις αρνητικές επιδράσεις της νικοτίνης, το *Manduca sexta*, του οποίου οι νικοτινικοί υποδοχείς εμφανίζουν μειωμένη συγγένεια για τη νικοτίνη. Επίσης, ο άνθρωπος έχει πολλές προσαρμογές που καθιστούν ανεκτή τη χρήση της νικοτίνης, καθώς η νικοτίνη συνδέεται κυρίως στους nAChRs του νευρικού του συστήματος, οι οποίοι έχουν ~50 φορές μεγαλύτερη συγγένεια από ό,τι οι nAChRs των σκελετικών μυών. Αυτή η αυξημένη συγγένεια επιτρέπει στη νικοτίνη να έχει ως πρωταρχικό στόχο τους προσυναπτικούς νικοτινικούς υποδοχείς του εγκεφάλου, οι οποίοι προκαλούν την απελευθέρωση της ντοπαμίνης, με αποτέλεσμα το αίσθημα ευχαρίστησης, διέγερσης, αυξημένης επαγρύπνησης (τη βελτίωση της σκέψης και τη συγκέντρωση), ανύψωση της διάθεσης, βελτιωμένης απόδοσης της εργασίας (για ορισμένους τύπους εργασιών, όπως επαναλαμβανόμενες/μονότονες), ανακούφισης του άγχους κ.λπ. Η μεταβολική αποικοδόμηση νικοτίνης και η γρήγορη απομάκρυνσή της από τον οργανισμό είναι ένας ακόμη μηχανισμός που προστατεύει τους νευρώνες από μεγαλύτερες συγκεντρώσεις νικοτίνης, αφού η νικοτίνη διαπερνά εύκολα τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό των θηλαστικών.



Manduca sexta

Οι τοξίνες εμφανίζουν σημαντική εξειδίκευση ως προς τους υπότυπους των νικοτινικών υποδοχέων τους οποίους στοχεύουν. Από τις σημαντικότερες τοξίνες είναι η **α-μπουγκαροτοξίνη** (α -bungarotoxin, α -Bgtx), μια πρωτεΐνη 74 αμινοξέων, 8 kDa, με 5 δισουλφιδικούς δεσμούς, η οποία προέρχεται από το φίδι *Bungarus multicinctus*. Συνδέεται μη αντιστρεπτά, με μεγάλη εξειδίκευση, στους nAChRs των

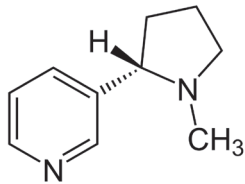
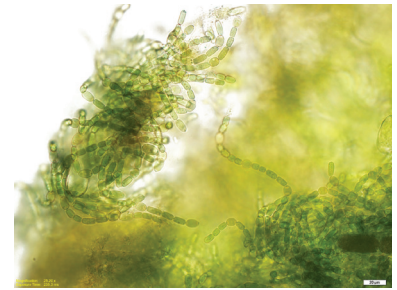
Nicotiana thaliana



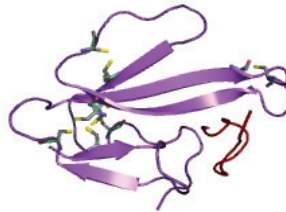
Bungarus multicinctus



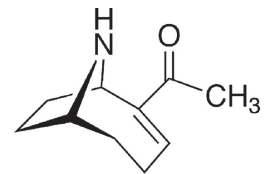
Anabaena



Νικοτίνη



α-μπουγκαροτοξίνη



α-ανατοξίνη

σκελετικών μυών στη θέση σύνδεσης της ακετυλοχολίνης, δρώντας ως αγωνιστής και προκαλώντας παράλυση, αναπνευστική ανεπάρκεια και τελικά τον θάνατο του θύματος. Καθώς συνδέεται μη αντιστρεπτά και εξειδικευμένα και, επιπλέον, μπορεί να συζευχθεί με ένα φθοροφόρο ή ένα ένζυμο για ανοσοϊστοχημική χρώση και απεικόνιση μέσω μικροσκοπίας φθορισμού, η α-μπουγκαροτοξίνη αποτέλεσε ένα χρήσιμο εργαλείο για την απομόνωση και τον μορφολογικό χαρακτηρισμό των nAChRs. Επίσης, βρέθηκε ότι δρα και ως ανταγωνιστής των νικοτινικών (α_7)₅ υποτύπων στον εγκέφαλο.

Άλλοι nAChRs με διαφορετική σύνθεση υπομονάδων στοχεύονται από τις κωνοτοξίνες (conotoxins), που παράγονται από τα δηλητηριώδη σαλιγκάρια του γένους *Copu*s στο Νότιο Ειρηνικό. Η προέλευση των κωνοτοξινών χρονολογείται περίπου 60 εκατομμύρια χρόνια πριν. Οι κωνοτοξίνες περιλαμβάνουν μία εκτεταμένη οικογένεια πεπτιδίων που προκαλούν παράλυση όταν εισέρχονται στη λεία τους. Όπως είδαμε, οι κωνοτοξίνες μπορεί να έχουν πολλούς στόχους, με σκοπό να αναστείλουν τη νευροδιαβίβαση, όπως τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Na⁺ και K⁺ (βλ. **Εικόνα 4.31**). Οι **α-κωνοτοξίνες** είναι συναγωνιστικοί αναστολείς των μυϊκών και νευρικών nAChRs, εμφανίζοντας μια εξειδίκευση ως προς τους υπότυπους α_7 και α_3/α_6 .

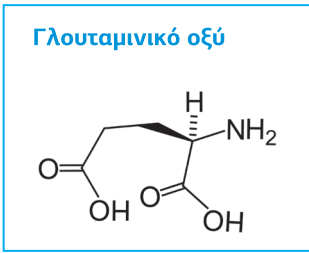
Μια άλλη τοξίνη που συνδέεται στους νικοτινικούς υποδοχείς είναι το αλκαλοειδές **α-ανατοξίνη** (α-anatoxin), η οποία παράγεται από το κυανοβακτήριο *Anabaena*, που συναντάται σε μεγάλες συγκεντρώσεις σε περιπτώσεις ευτροφισμού σε λίμνες. Η α-ανατοξίνη, επίσης γνωστή ως "Very Fast Death Factor", προκαλεί σπασμούς και θάνατο από αναπνευστική παράλυση. Δεσμεύεται μη αντιστρεπτά στους μυϊκούς και στους μεταγαγγλιακούς nAChRs, όπου δρα ως ένας αγωνιστής της ακετυλοχολίνης. Λόγω της υψηλής τοξικότητάς της και της πιθανής παρουσίας της στο πόσιμο νερό, η α-ανατοξίνη αποτελεί απειλή για ανθρώπους και ζώα.

Εικόνα 4.73

Οι σημαντικότερες τοξίνες που συνδέονται σε νικοτινικούς υποδοχείς. Η νικοτίνη παράγεται κυρίως από το φυτό του καπνού και συνδέεται στους μυϊκούς nAChRs στα έντομα προκαλώντας παράλυση, ενώ στον άνθρωπο συνδέεται στους nAChRs του εγκεφάλου προκαλώντας ευχαρίστηση και διέγερση. Η α-μπουγκαροτοξίνη, μια πρωτεΐνη 74 αμινοξέων, 8 kDa, με 5 δισουλφιδικούς δεσμούς, προέρχεται από το φίδι *Bungarus multicinctus* και η α-ανατοξίνη, ένα δικυκλικό αμινο-αλκαλοειδές, προέρχεται από το κυανοβακτήριο *Anabaena*. Και οι δύο τοξίνες συνδέονται μη αντιστρεπτά με μεγαλύτερη συγγένεια στους μυϊκούς nAChRs, στους οποίους δρουν ως αγωνιστές, προκαλώντας σπασμούς, παράλυση, αναπνευστική ανεπάρκεια και τελικά τον θάνατο του θύματος.

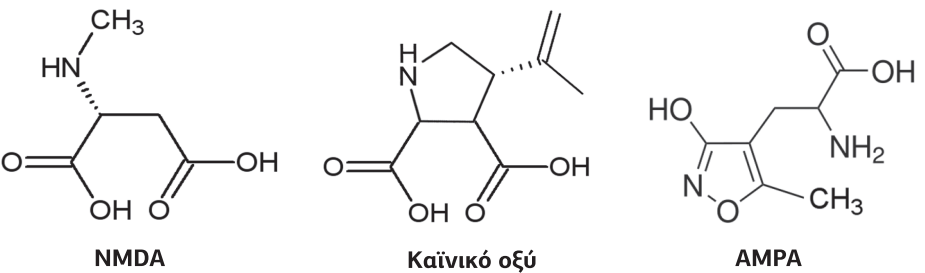
4.3 | Οικογένεια ιοντοτροπικών υποδοχών του γλουταμινικού οξέος

Η τρίτη υπεροικογένεια υποδοχών καναλιών ιόντων περιλαμβάνει τους υποδοχείς του γλουταμινικού οξέος (Glu), του πιο κοινού νευροδιαβιβαστή του εγκεφάλου. Οι υποδοχείς του γλουταμινικού είναι τετραμερείς, σχηματίζονται από διαφορετικές υπομονάδες και ταξινομούνται σε τρεις οικογένειες με διαφορετικές ιδιότητες η καθεμία. Η θέση σύνδεσης του γλουταμινικού διαφέρει στις τρεις οικογένειες και



Εικόνα 4.74
Οι σημαντικότεροι προσδέτες των γλουταμινικών ιοντοτροπικών υποδοχέων.

Το γλουταμινικό οξύ είναι ο ενδογενής νευροδιαβιβαστής, ο οποίος συνδέεται σε όλους του τύπους γλουταμινικών υποδοχέων. Τα συνθετικά μόρια NMDA (ένα υδατοδιαλυτό μόριο που αναπτύχθηκε το 1960 ως ανάλογο του γλουταμινικού από τον Jeff Watkins), AMPA (αναπτύχθηκε το 1982 ως ανάλογο του γλουταμινικού από τον Tage Honore στην Royal Danish School of Pharmacy της Copenhagen), καθώς και το καϊνικό οξύ, ένα φυσικό οξύ που απομονώθηκε το 1953 από θαλάσσια φύκη, κατατάσσονται στους γλουταμινικούς υποδοχείς σε τρεις οικογένειες.



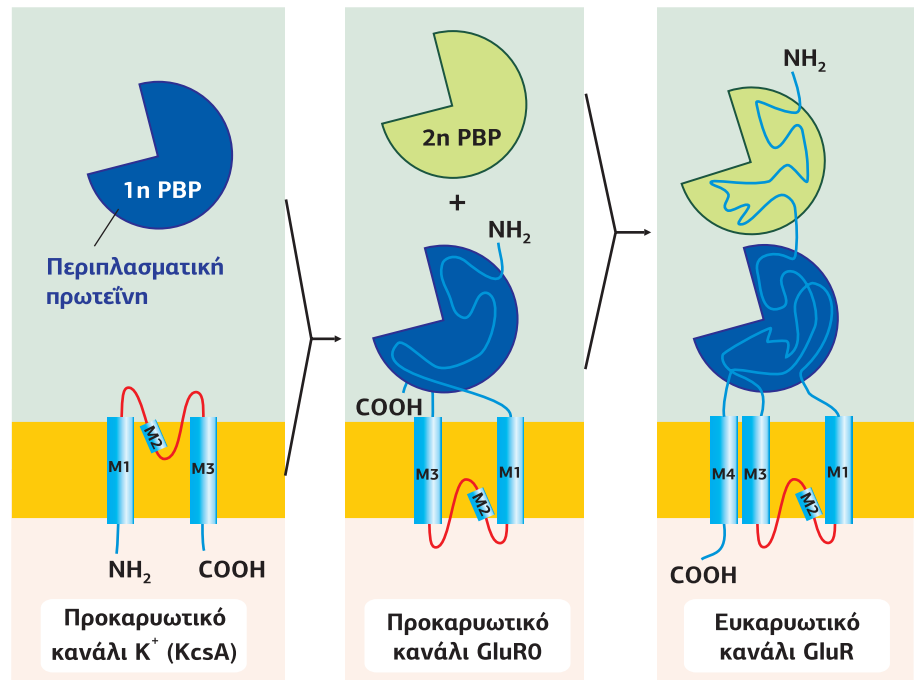
Δομή των Γλουταμινικών Υποδοχέων

Όλοι οι ιοντοτροπικοί υποδοχείς του γλουταμινικού έχουν όμοια δομή. Αποτελούνται από 4 μεγάλες υπομονάδες (>900 κατάλοιπα αμινοξέων). Μπορούν να δημιουργούν ομο- ή ετερο- τετραμερή μόνο από υπομονάδες της οικογένειας στην οποία ανήκουν, δηλαδή οι υποδοχείς AMPA μόνο από τις υπομονάδες GluA1–GluA4, οι υποδοχείς καϊνικού από τις υπομονάδες GluK1–GluK5 και οι υποδοχείς NMDA από τις GluN1, GluN2A–GluN2D, GluN3A και GluN3B.

Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από 4 διακριτές ημι-αυτόνομες περιοχές (Εικόνα 4.76):

Εικόνα 4.75
Ενκαρνωτικοί γλουταμινικοί ιοντοτροπικοί υποδοχείς και οι προκαρνωτικοί τους πρόγονοι.

Στην εικόνα διακρίνεται μια υπομονάδα των βακτηριακών καναλιών K⁺ (KcsA), μια υπομονάδα των βακτηριακών γλουταμινικών υποδοχέων GluR0 (προϊόν σύντηξης μιας περιπλασματικής πρωτεΐνης PBP, με ένα αντεστραμμένο κανάλι KcsA), και μια υπομονάδα των ενκαρνωτικών υποδοχέων GluR, η οποία περιέχει μια επιπλέον M4 διαμεμβρανική περιοχή και μια 2η περιπλασματική πρωτεΐνη PBP. Με μπλε συμβολίζεται η περιοχή σύνδεσης του προσδέτη (LBD) και με πράσινο η NH₂-τελική περιοχή (ATD). [80]



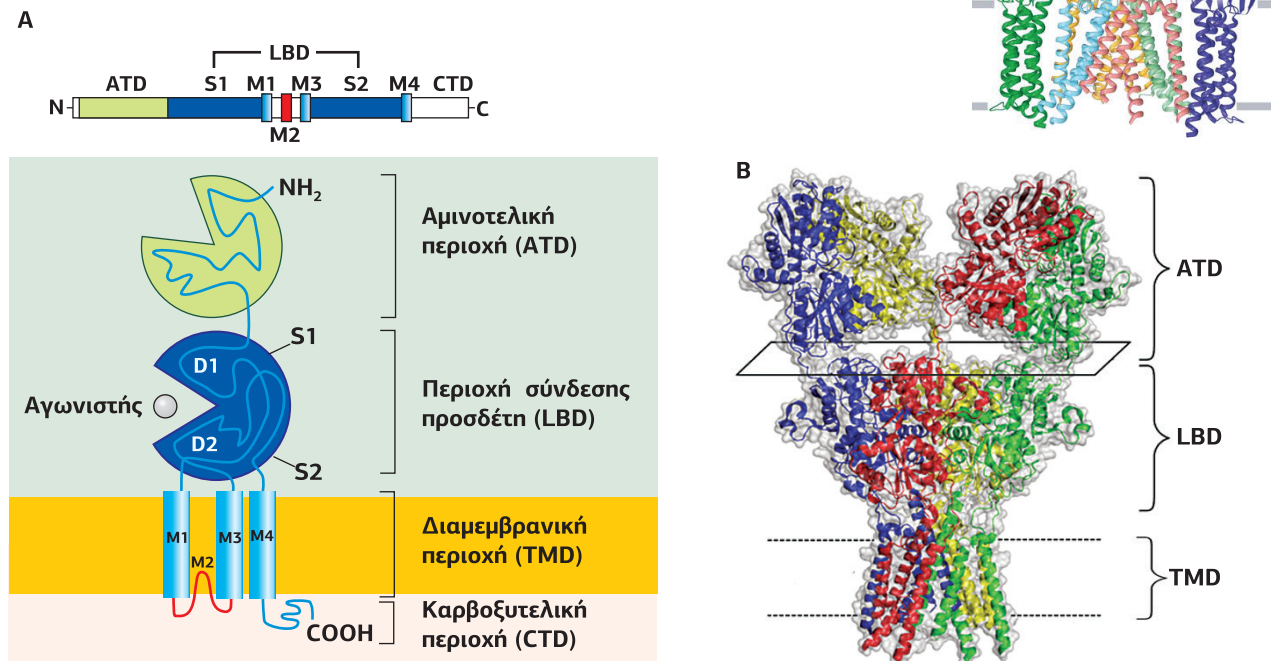
- την εξωκυτταρική NH₂-τελική περιοχή (ATD, Amino-Terminal Domain),
- την περιοχή σύνδεσης του εξωκυτταρικού νευροδιαβιβαστή (LBD, Ligand-Binding Domain), η οποία δημιουργείται από τμήμα του εξωκυτταρικού άκρου και τον εξωκυτταρικό βρόχο που συνδέει την M3 και M4 διαμεμβρανική περιοχή,
- τη διαμεμβρανική περιοχή (TMD, Transmembrane Domain) και
- την COOH-τελική ενδοκυτταρική περιοχή (CTD, Carboxyl-Terminal Domain).

Η συναρμολόγηση του υποδοχέα λαμβάνει χώρα στο ενδοπλασματικό δίκτυο, όπου ο υποδοχέας δημιουργείται από την ένωση δύο ήδη διμερισμένων υπομονάδων. Η περιοχή ATD είναι υπεύθυνη για τον διμερισμό και την αλληλεπίδραση των υπομονάδων, ενώ ο τετραμερισμός συμβαίνει μέσω αλληλεπιδράσεων των LBDs και των TMDs περιοχών τους. Η περιοχή ATD περιέχει, επίσης, θέσεις σύνδεσης για δισθενή κατιόντα, όπως Zn²⁺, για αλλοστερικούς τροποποιητές, και για εξωκυτταρικές πρωτεΐνες, όπως η N-καδερίνη. Κατά το πέρασμά του από το ΕΔ και το Golgi ο γλουταμινικός υποδοχέας γλυκοσυλιώνεται σε αλληλουχίες της ATD περιοχής. Αν και ο ρόλος της γλυκοσυλίωσης στη λειτουργία του υποδοχέα δεν είναι σαφής, μπορεί να επηρεάσει την απευαισθητοποίηση και τη μέγιστη ροή ιόντων στους AMPA και στους υποδοχείς καϊνικού.

Η διαμεμβρανική περιοχή (TMD) κάθε υπομονάδας αποτελείται από τρεις διαμεμβρανικές α-έλικες M1, M3 και M4, οι οποίες δημιουργούν τα τοιχώματα του πόρου του καναλιού και από τον M2-βρόχο, ο οποίος δημιουργεί το στόμιο του πόρου. Οι διαμεμβρανικές αυτές περιοχές έχουν μικρή αλλά σημαντική ομολογία με τις διαμεμβρανικές περιοχές των αντεστραμμένων καναλιών K⁺. Όπως οι γλουταμινικοί υποδοχείς, έτσι και τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια K⁺ αποτελούνται από τέσσερις υπομονάδες. Σε αντίθεση, όμως, με τους γλουταμινικούς υποδοχείς, η κάθε υπομονάδα των καναλιών K⁺ αποτελείται από 6 διαμεμβρανικές περιοχές (βλ. **Εικόνα 4.25**). Το κοινό που εμφανίζουν τα δύο κανάλια είναι ο M2 με τον P-βρόχο, οι οποίοι σχηματίζουν την είσοδο του πόρου και αποτελούν το φίλτρο ιόντων (**Εικόνα 4.77**).

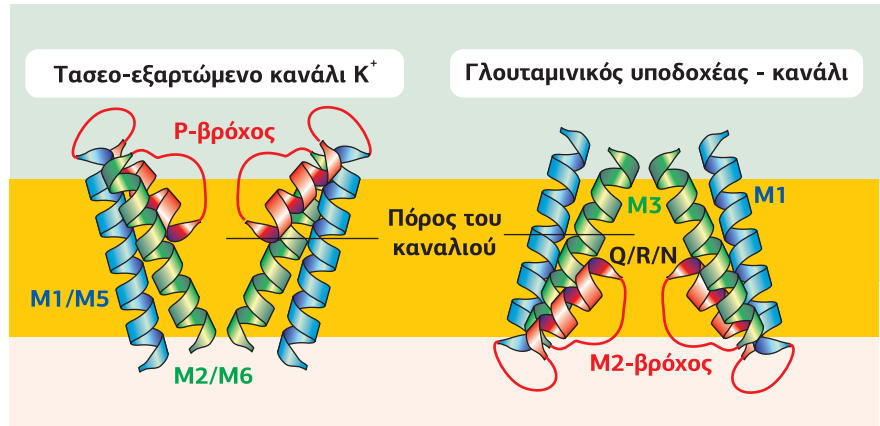
Ο M2-βρόχος έχει δομή α-έλικας, η ευλυγισία της οποίας του δίνει τη δυνατότητα να δημιουργήσει το άνοιγμα του πόρου του καναλιού, ενώ παράλληλα συνδέει την M1 με την M3 περιοχή. Στην κορυφή της κάμψης του M2-βρόχου βρίσκεται η θέση Q/R/N, η οποία παίρνει το όνομά της από τα αμινοξέα γλουταμίνη (Q), αργι-

Εικόνα 4.76
Δομική οργάνωση των γλουταμινικών ιοντοτροπικών υποδοχέων. Α. Οι γλουταμινικοί υποδοχείς κανάλια αποτελούνται από τέσσερις υπομονάδες. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από τέσσερις διακριτές περιοχές: την εξωκυτταρική NH₂-τελική περιοχή (ATD), την περιοχή σύνδεσης του προσδέτη-γλουταμινικού (LBD), τη διαμεμβρανική περιοχή (TMD), η οποία αποτελείται από τρεις διαμεμβρανικές περιοχές M1, M3 και M4 και τον M2-βρόχο, καθώς και την COOH-τελική ενδοκυτταρική περιοχή (CTD). Β. Κρυσταλλική δομή του υποδοχέα NMDA. [96] [40] Γ. Οι AMPARs συνδέονται με δύο ρυθμιστικές υπομονάδες stargazin (STZ).



Εικόνα 4.77
Δομική ομολογία των ιοντοτροπικών υποδοχών γλουταμινικού με τα αντεστραμμένα ταεο-εξαρτώμενα κανάλια K⁺.

Διακρίνεται με κόκκινο το στόμιο των ταεο-εξαρτώμενων καναλιών K⁺ και των καναλιών γλουταμινικού που σχηματίζεται από τον P- και τον M2-βρόχο (P loop, M2 loop), αντίστοιχα. Στην άκρη του M2-βρόχου διακρίνεται η Q/R/N περιοχή του γλουταμινικού υποδοχέα. [106]

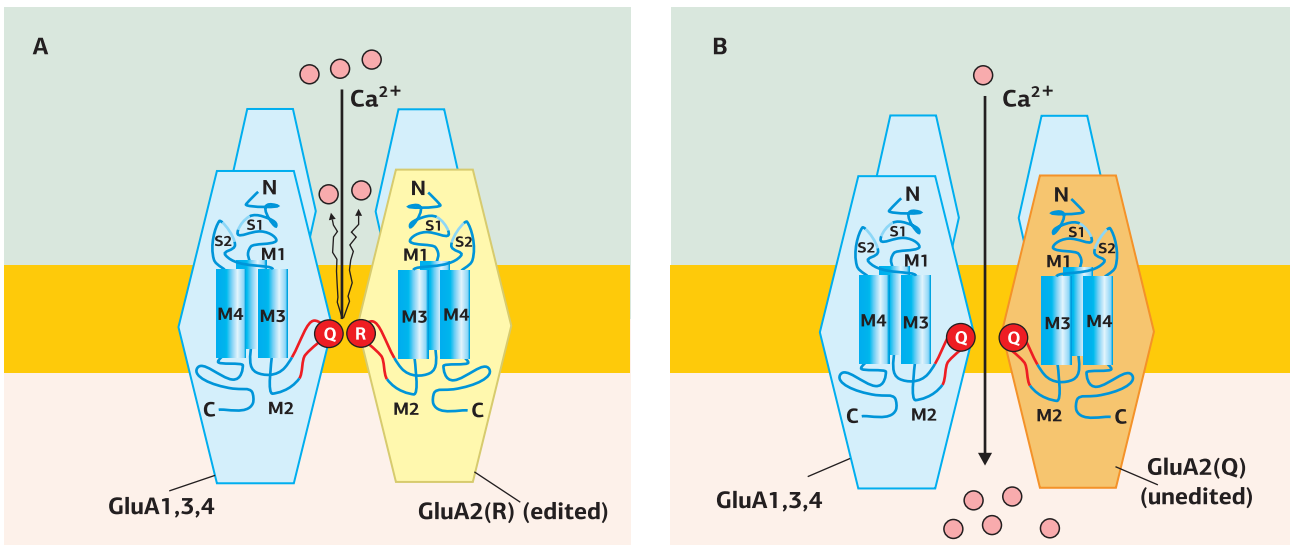


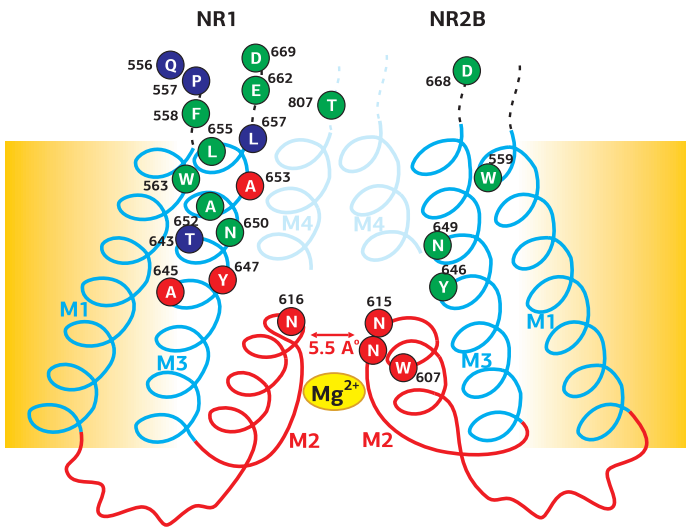
νίνη (R) και ασπαργίνη (N). Οι υπομονάδες των NMDA GluN1 και GluN2 στη θέση Q/R/N περιέχουν ασπαργίνη (N), η GluN3 περιέχει γλουταμίνη (Q), ενώ οι υπομονάδες των non-NMDA (AMPA και καϊνικού) περιέχουν γλουταμίνη (Q), με εξαίρεση τις υπομονάδες GluA2 των υποδοχέων AMPA και GluK1/2 των υποδοχέων καϊνικού, οι οποίες τροποποιούνται μετα-μεταγραφικά μέσω ενός μηχανισμού που ονομάζεται **RNA editing** (επιμέλεια RNA). Μέσω αυτού του μηχανισμού η αδενοσίνη του κωδικωνίου CAG (Q) μετατρέπεται από την απαμινάση της αδενοσίνης σε ινοσίνη, η οποία αναγνωρίζεται ως G (CGG: R). Η περιοχή Q/R/N καθορίζει τη διαπερατότητα του καναλιού στο Ca²⁺: οι υπομονάδες που περιέχουν ένα κατάλοιπο γλουταμίνης ή ασπαργίνης είναι διαπερατές στο Ca²⁺, ενώ αν αντί για γλουταμίνη υπάρχει αργινίνη, η διαπερατότητα στο Ca²⁺ χάνεται. Κατά συνέπεια, οι υποδοχείς AMPA και καϊνικού που περιέχουν τις υπομονάδες που έχουν υποστεί editing δεν εμφανίζουν διαπερατότητα στο Ca²⁺ και δεν μπλοκάρονται από εξωκυτταρικές πολυαμίνες, σε αντίθεση με τους υπόλοιπους υποδοχείς (κυρίως NMDA), οι οποίοι έχουν γλουταμίνη ή ασπαργίνη, και είναι διαπερατοί στο Ca²⁺ (**Εικόνα 4.78**).

Εικόνα 4.78
 Διακρίνεται η περιοχή Q/R/N του M2-βρόχου των AMPA ιοντοτροπικών υποδοχών γλουταμινικού, οι οποίοι είτε περιέχουν έστω και μια υπομονάδα GluA2(R) που έχει υποστεί editing είτε περιέχουν υπομονάδες GluA1, 3, 4 (που δεν υφίστανται editing) ή GluA2(Q), οι οποίες δεν έχουν τροποποιηθεί μετα-μεταγραφικά. Ανάλογα με τη σύσταση των υπομονάδων μεταβάλλεται και η διαπερατότητα των καναλιών: τα κανάλια τα οποία περιέχουν έστω και μια υπομονάδα που έχει υποστεί editing και στη θέση Q/R/N υπάρχει R (αργινίνη), δεν είναι διαπερατά στο Ca²⁺ (A), ενώ τα υπόλοιπα είναι διαπερατά (B). [44]

Μεταλλάξεις στη θέση Q/R/N, που καθιστούν τους υποδοχείς AMPA και καϊνικού διαπερατούς στο Ca²⁺, οδηγούν σε επιληψία και πρόωρο θάνατο. Επίσης, εμπλέκονται στην αμυλοτροφική πλευρική σκλήρυνση και στον προοδευτικό εκφυλισμό των κινητήριων νευρώνων οδηγώντας σε μοιραία μυϊκή αδυναμία.

ΑΣΥΜΜΕΤΡΙΑ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ NMDA. Ένας λειτουργικός υποδοχέας NMDA είναι ένα ετερο-τετραμερές, το οποίο αποτελείται δύο υπομονάδες NR1 και δύο υπομονάδες από τους υποτύπους NR2A, NR2B, NR2C ή NR2D. Ο M2-βρόχος της κάθε υπομονάδας των NMDA δεν συμβάλλει ισοδύναμα στον σχηματισμό του τοι-





Εικόνα 4.79
Ασυμμετρία των NMDARs και κλείσιμο του πόρου από το Mg²⁺. Η ασπαραγίνη-616 (N616) της θέσης Q/R/N του M2 βρόχου της υπομονάδας NR1 βρίσκεται απέναντι από την ασπαραγίνη-615 (N615) της NR2B υπομονάδας. Το γεγονός αυτό επηρεάζει τη διαπερατότητα του καναλιού επιτρέποντας την είσοδο ιόντων Ca²⁺, αλλά όχι Mg²⁺. Με κόκκινους και πράσινους κύκλους συμβολίζονται τα αμινοξέα, μεταλλάξεις των οποίων επηρεάζουν το μπλοκάρισμα του καναλιού από αναστολείς, όπως οι MK-801, spermidine και memantine. Με μπλε κύκλους συμβολίζονται τα αμινοξέα, μεταλλάξεις των οποίων δημιουργούν ένα ιδιόσυστα ανοιχτό κανάλι. [53]

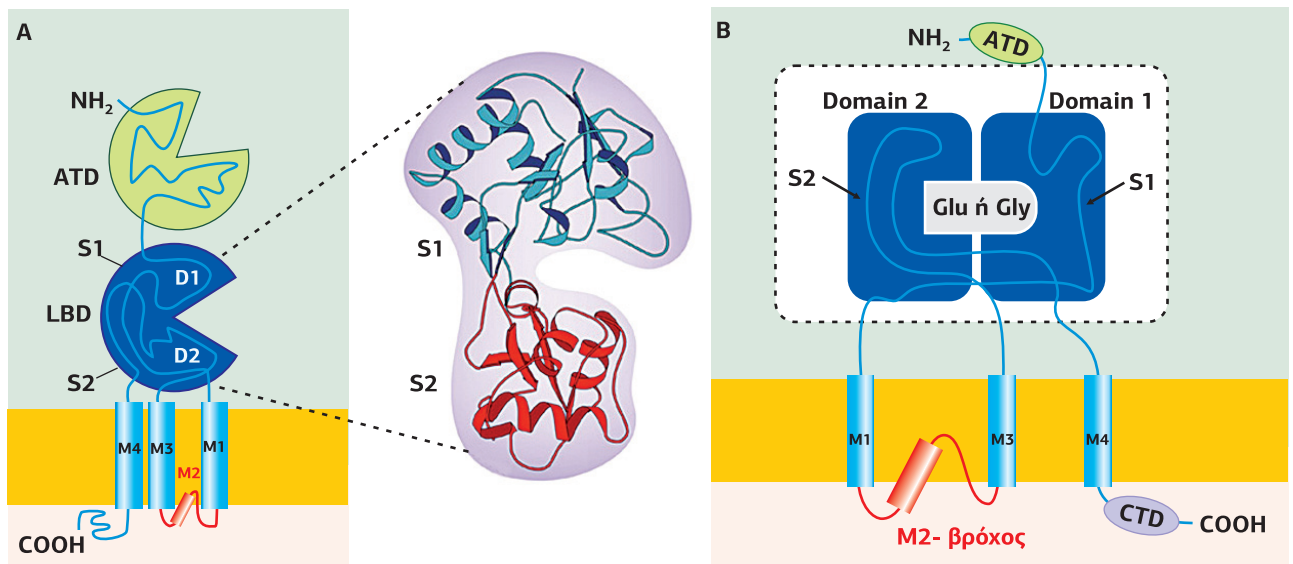
χώματος. Η ασπαραγίνη-615 (N) στη θέση Q/R/N του M2 βρόχου της υπομονάδας NR2B βρίσκεται απέναντι από την ασπαραγίνη 616 (N+1) της υπομονάδας NR1 (Εικόνα 4.79). Λόγω αυτής της ασυμμετρίας το κανάλι αλληλεπιδρά με διαφορετικό τρόπο με τα δισηθενή κατιόντα, δηλαδή είναι διαπερατό στο Ca²⁺, όχι όμως και στο Mg²⁺. Σε αυτή την ασυμμετρία οφείλεται ότι οι NMDARs φράζουν από Mg²⁺.

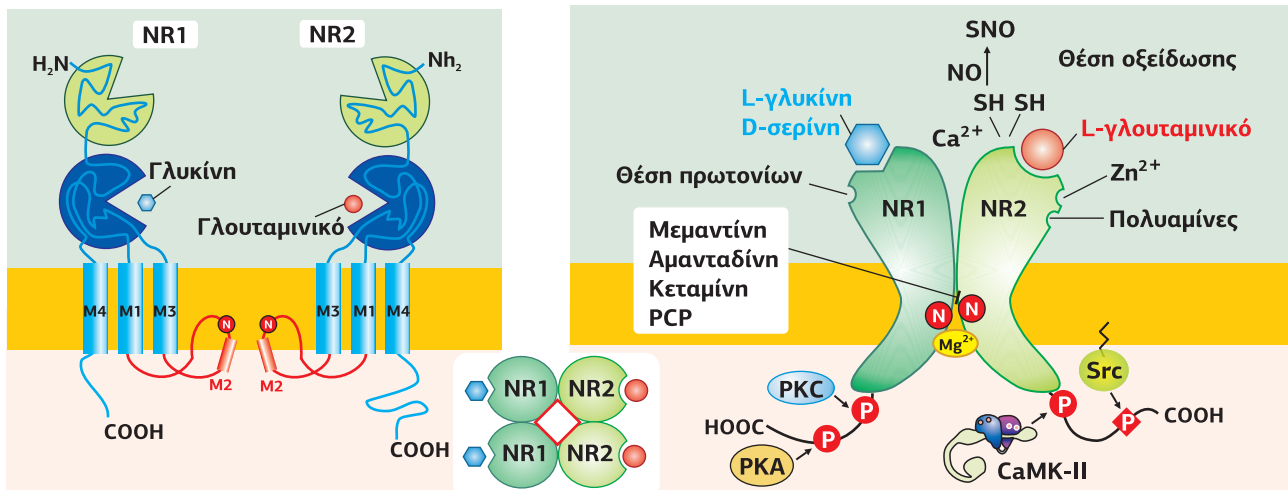
Η θέση σύνδεσης του προσδέτη (LBD Ligand-Binding Domain) βρίσκεται εξωκυτταρικά, μεταξύ των λοβών S1 και S2 (Εικόνα 4.80). Ο λοβός S1 (S1 lobe) δημιουργείται από τμήμα της NH₂-τελικής περιοχής, ενώ ο λοβός S2 αποτελεί τμήμα του μεγάλου εξωκυτταρικού βρόχου που συνδέει τις διαμεμβρανικές περιοχές M3 και M4. Απαιτείται η σύνδεση τεσσάρων μορίων γλουταμινικού ή ασπαρτικού (το ασπαρτικό δεν διεγείρει τόσο ισχυρά τον υποδοχέα), όπως και οι υπομονάδες, για την ενεργοποίηση του υποδοχέα. Στην περίπτωση του υποδοχέα NMDA απαιτείται και η σύνδεση L-γλυκίνης (ή D-σερίνης), η οποία συνδέεται στις NR1 υπομονάδες, ενώ το γλουταμινικό στις NR2 (Εικόνα 4.81).

Οι υποδοχείς NMDA, όπως και όλοι υποδοχείς κανάλια, διαθέτουν αλλοστερικές θέσεις σύνδεσης για νευροτοξίνες. Από τις γνωστότερες τοξίνες που μπλοκάρουν τους υποδοχείς NMDA είναι η φαινοκυκλιδίνη (PCP), ένα παραισθησιογόνο γνωστό ως “angel dust”, το οποίο συνδέεται στα τοιχώματα του καναλιού, και η κεταμίνη, ένα αναισθητικό που χρησιμοποιείται στην κτηνιατρική. Το κανάλι ρυθμίζεται,

Το **RNA editing** είναι μια σπάνια μετα-μεταγραφική τροποποίηση των RNAs, όπου μια νουκλεοτιδική αλληλουχία τροποποιείται είτε με εισαγωγή ή αφαίρεση ουρακίλης είτε με τροποποίηση αδερίνης σε ινοσίνη ή κυτοσίνης σε ουρακίλη.

Εικόνα 4.80
 A. Η θέση σύνδεσης του προσδέτη στον ιοντοτροπικό γλουταμινικό υποδοχέα. [66] B. Η θέση σύνδεσης του προσδέτη (LBD) βρίσκεται εξωκυτταρικά, μεταξύ των λοβών S1 και S2. Ο λοβός S1 δημιουργείται από τμήμα της NH₂-τελικής περιοχής, ενώ ο λοβός S2 αποτελεί τμήμα του μεγάλου εξωκυτταρικού βρόχου που συνδέει τις διαμεμβρανικές περιοχές M3 και M4. [106]





Εικόνα 4.81

Θέσεις σύνδεσης στον υποδοχέα NMDA. Διακρίνονται οι θέσεις σύνδεσης των ενδογενών προσδετών, γλυκίνης στο NH₂-τελικό άκρο των υπομονάδων NR1 και γλουταμινικού στο NH₂-τελικό άκρο των υπομονάδων NR2. Επιπλέον, διακρίνονται οι αλλοστερικές θέσεις σύνδεσης της κεταμίνης και της φαινοκυκλιδίνης (PCP) στα εσωτερικά τοιχώματα του πόρου, καθώς και των πολυαμινών και Zn²⁺ στην εξωκυτταρική πλευρά του υποδοχέα. Οι υποδοχείς NMDA περιέχουν επίσης κυστεΐνες που λειτουργούν ως θέσεις οξειδωσης ή νιτροσουλίωσης (S-NO). Η νιτροσουλίωση των NMDARs οδηγεί στο κλείσιμο του καναλιού. [7]

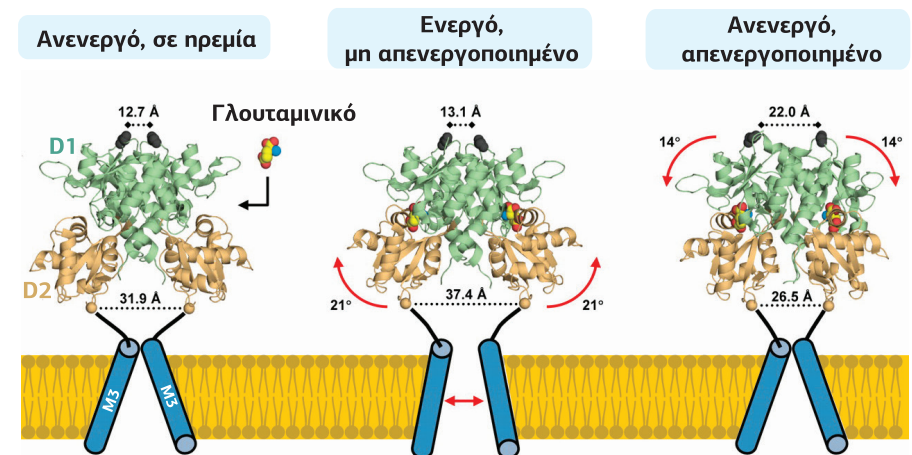
επίσης, από ιόντα Zn²⁺, πολυαμίνες, πρωτόνια, νιτροσουλίωση και οξείδωση σε συγκεκριμένες κυστεΐνες, και τέλος από φωσφορυλίωση από τις κινάσες PKA, PKC, CaMKII και Src, οι οποίες αυξάνουν την αγωγιμότητα του καναλιού (**Εικόνα 4.81**).

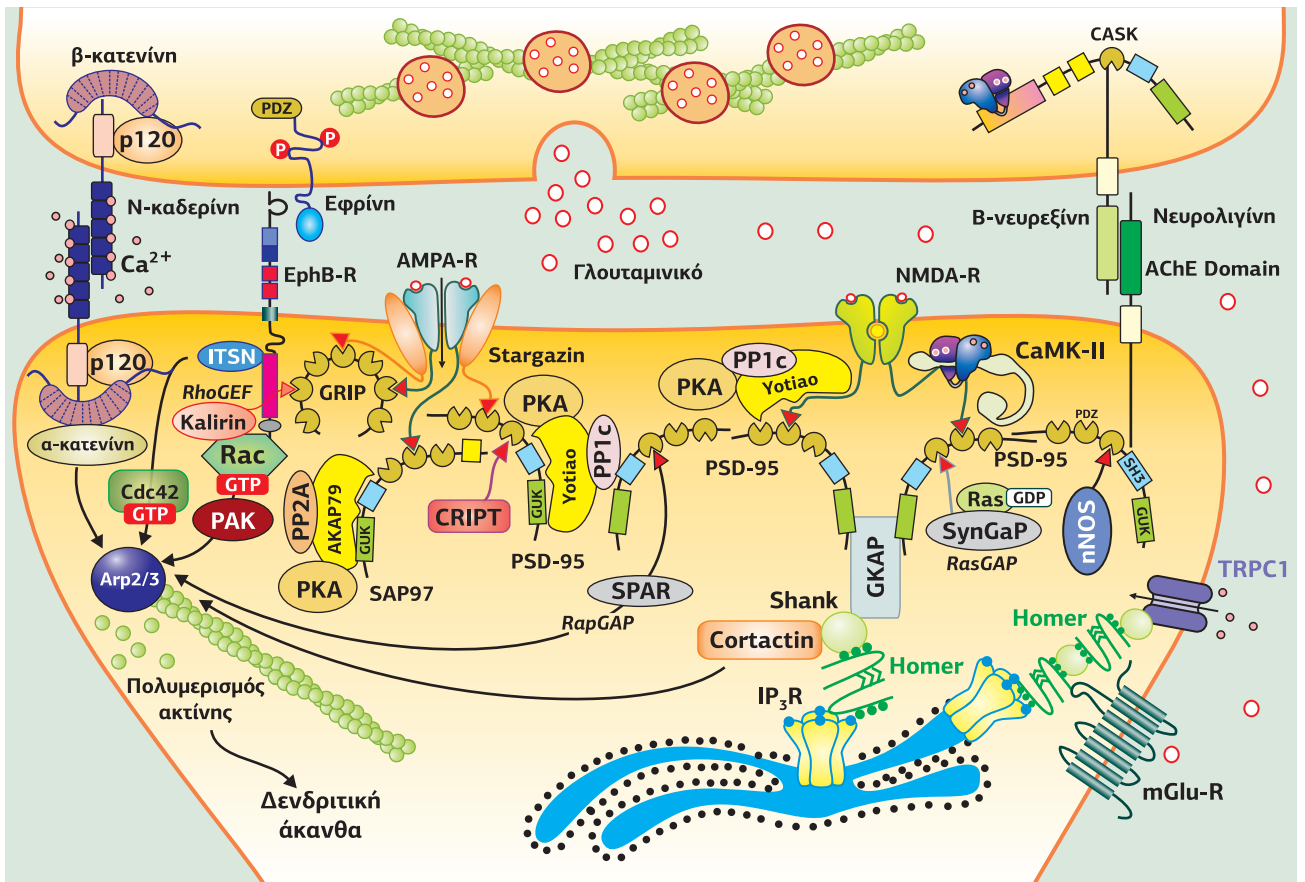
ΔΙΑΜΟΡΦΩΣΗ ΑΝΟΙΧΤΟΥ-ΚΛΕΙΣΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ. Η περιοχή που παίζει τον σημαντικότερο ρόλο στο άνοιγμα των γλουταμινικών υποδοχέων είναι η M3. Με τη σύνδεση του προσδέτη οι λοβοί S1 και S2 κλείνουν σαν κέλυφος οστράκου, γεγονός που οδηγεί σε αλλαγή διαμόρφωσης και αύξηση της απόστασης μεταξύ των λοβών S1 και S2 των διαφορετικών υπομονάδων. Όμως, καθώς οι λοβοί είναι συνδεδεμένοι με τις περιοχές M3, η απομάκρυνσή τους οδηγεί στην κάμψη των M3 και την απομάκρυνσή τους από τον κεντρικό άξονα του πόρου. Επειδή οι M3 βρίσκονται σε φυσική επαφή με τους M2-βρόχους, η μετακίνησή τους ανοίγει τον πόρο και διέρχονται τα ιόντα (**Εικόνα 4.82**).

Το COOH-τελικό άκρο (CTD) είναι η λιγότερο συντηρημένη περιοχή των γλουταμινικών υποδοχέων, με σημαντικές διαφορές και ως προς την αλληλουχία των αμινοξέων και ως προς το μήκος της. Η περιοχή CTD είναι υπεύθυνη για την τοποθέτηση του υποδοχέα στη μεμβράνη, τη σταθεροποίησή του, τις μετα-μεταφραστικές του τροποποιήσεις και τη στοχοποίηση για αποικοδόμηση. Για τις περισσότερες υπομονάδες των γλουταμινικών υποδοχέων (π.χ. GluN1, GluN2A), η αποκοπή του CTD δεν καταστρέφει τη δραστηριότητα του υποδοχέα, απλώς μεταβάλλει τη ρύθμισή του. Η περιοχή αυτή περιέχει θέσεις φωσφορυλίωσης και αλληλεπίδρασης με πολλές πρωτεΐνες, όπως του κυτταροσκελετού, πρωτεΐνες σκαλωσιάς, προσαρμογείς, αγκυροβόλια, δομικές, και σηματοδοτικές πρωτεΐνες [π.χ. η υπομονάδα GluA1

Εικόνα 4.82

Η ανενεργή-κλειστή (inactive), η ενεργή-ανοιχτή (active) μετά τη σύνδεση του γλουταμινικού, και η απεναισθητοποιημένη-κλειστή (desensitized) διαμόρφωση του γλουταμινικού ιοντοτροπικού υποδοχέα AMPA. Η σύνδεση του γλουταμινικού στη σχισμή που δημιουργούν οι S1 και S2 λοβοί οδηγεί σε αλλαγή διαμόρφωσης και αύξηση της απόστασης μεταξύ των S1 και S2 των διαφορετικών υπομονάδων. Ως αποτέλεσμα, οι διαμεμβρανικές περιοχές M3 απομακρύνονται από τον κεντρικό άξονα του πόρου και το κανάλι ανοίγει. [96]





αλληλεπιδρά με την cGMP-dependent protein kinase (PKG-II), η GluA4 με την κινάση PKC, οι υπομονάδες των NMDA-Rs με την Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK-II) καθώς και με τη φωσφατάση PP1].

Καθώς οι υποδοχείς AMPA και NMDA βρίσκονται στη μετασυναπτική μεμβράνη, αυτό το τεράστιο πολυπρωτεϊνικό δίκτυο που δημιουργείται χαρακτηρίζεται ως **μετασυναπτική πυκνότητα** (Postsynaptic Density, PSD) και δίνει τη δυνατότητα, αφενός, μιας τοπικής και χρονικής εξειδίκευσης στη ρύθμιση των γλουταμινικών υποδοχέων και, αφετέρου, της άμεσης μεταγωγής του σήματος (**Εικόνα 4.83**).

Ενεργοποίηση των υποδοχέων AMPA και NMDA. Ρόλος στη συναπτική πλαστικότητα

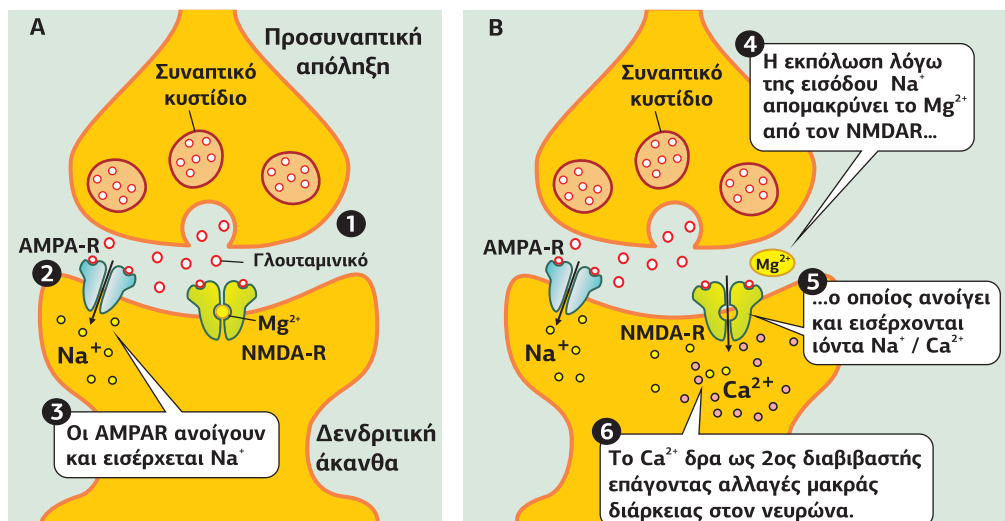
Το γλουταμινικό για να προκαλέσει τη διέγερση του μετασυναπτικού νευρώνα απαιτεί την ενεργοποίηση και των δύο τύπων γλουταμινικών υποδοχέων, AMPA και NMDA, οι οποίοι βρίσκονται στη μετασυναπτική μεμβράνη, ενώ οι καϊνικοί υποδοχείς βρίσκονται προσυναπτικά, ελέγχοντας την απελευθέρωση του γλουταμινικού. Για την ενεργοποίηση του NMDA-R απαιτείται πρώτα η ενεργοποίηση του AMPA-R, καθώς ο NMDA-R ανοίγει μετά τη σύνδεση του προσδέτη και την αλλαγή του δυναμικού. Τα βήματα για την ενεργοποίηση του υποδοχέα NMDA είναι (**Εικόνα 4.84**):

1. Απελευθέρωση του γλουταμινικού από τον προσυναπτικό νευρώνα στη συναπτική σχισμή.
2. Το γλουταμινικό δεσμεύεται στους υποδοχείς AMPA και NMDA.
3. Ο υποδοχέας NMDA, λόγω της παρουσίας του Mg^{2+} (και πιθανόν και του Zn^{2+}), το οποίο φράζει το στόμιο του πόρου του καναλιού, δεν ανοίγει. Αντιθέτως, ο AMPA-R ενεργοποιείται, το κανάλι

Εικόνα 4.83

Οι γλουταμινικοί ιοντοτροπικοί υποδοχείς NMDA και AMPA βρίσκονται στους μετασυναπτικούς νευρώνες, οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τη δημιουργία της μετασυναπτικής πυκνότητας (postsynaptic density), δηλαδή δημιουργούν μεγάλα πολυπρωτεϊνικά συμπλέγματα με κανάλια, πρωτεΐνες σκαλωσιές, πρωτεΐνες προσαρμογής, σηματοδοτικές πρωτεΐνες και στοιχεία του κυτταροσκελετού. Η σημαντικότερη από τις πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε αυτό το δίκτυο των πρωτεϊνών είναι η πρωτεΐνη σκαλωσιές PSD-95, η οποία μέσω των περιοχών PDZ συνδέεται με τις πρωτεΐνες GKAP (Guanylate Kinase-Associated Protein), AKAP79 (Adenylate-Kinase Anchoring Protein), CaMK-II (Calcium/Calmodulin-dependent protein Kinase II), CRIPT (Cysteine-Rich Interactor of PDZ-Three), GRIP (Glutamate Receptor Interacting Protein), και nNOS (neuronal Nitric Oxide Synthase). Η δημιουργία της μετασυναπτικής πυκνότητας οδηγεί στον σχηματισμό της δενδριτικής άκανθας, μιας νέας συναπτικής απόληξης, που σχετίζεται με τη διαδικασία της μνήμης.

Εικόνα 4.84
Ενεργοποίηση των υποδοχέων γλουταμινικού AMPA και NMDA Μετά την απελευθέρωσή του στη συναπτική σχισμή, το γλουταμινικό δεσμεύεται στους υποδοχείς NMDA-R (οι οποίοι όμως λόγω της παρουσίας του Mg^{2+} στην είσοδο του πόρου δεν μπορούν να ανοίξουν) και στους AMPA-R (οι οποίοι ανοίγουν και εισέρχονται ιόντα Na^+). Λόγω της εκπόλωσης που ακολουθεί, αλλάζει η διαμόρφωση του NMDA-Rs, το Mg^{2+} απομακρύνεται, το κανάλι ανοίγει και εισέρχονται ιόντα Na^+ και κυρίως Ca^{2+} . Στη συνέχεια, το Ca^{2+} δρα ως δεύτερος διαβιβαστής επάγοντας αλλαγές μακράς διάρκειας που αφορούν τη συναπτική πλαστικότητα.

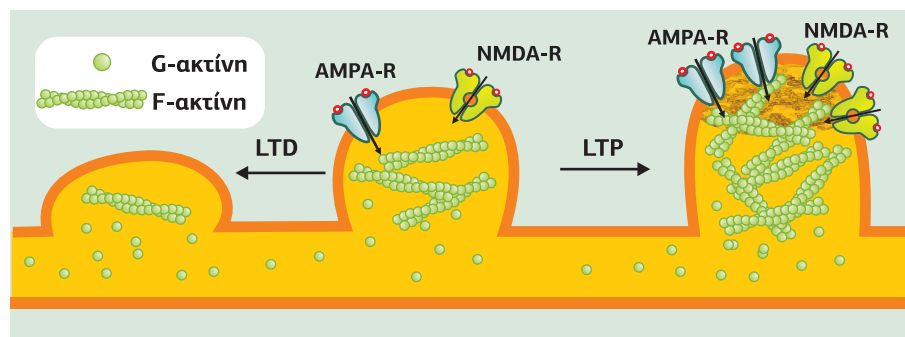


1. Οι AMPAR ανοίγουν και εισέρχεται Na^+
2. Η εκπόλωση λόγω της εισόδου Na^+ απομακρύνει το Mg^{2+} από τον NMDAR...
3. Το Ca^{2+} δρα ως 2ος διαβιβαστής επάγοντας αλλαγές μακράς διάρκειας στον νευρώνα.
4. Το δυναμικό του κυττάρου αυξάνεται και απομακρύνεται το Mg^{2+} από τον NMDA-R.
5. Ο NMDA-R ανοίγει και εισέρχονται ιόντα Na^+ και κυρίως Ca^{2+} .
6. Το Ca^{2+} δρα ως 2ος διαβιβαστής, επάγοντας αλλαγές μακράς διάρκειας στον νευρώνα.

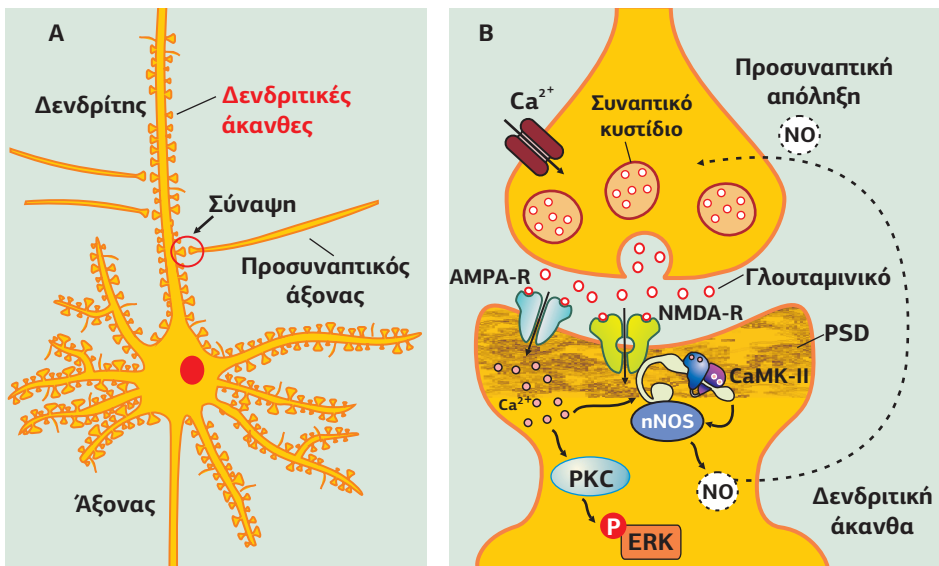
Το ζευγάρι των δύο υποδοχέων, AMPA-R και NMDA-R, καθώς ελέγχεται από έναν συνδυασμό απελευθέρωσης του νευροδιαβιβαστή και μεταβολής του μετασυναπτικού δυναμικού, είναι κατάλληλο για να μεταφράσει νευρικά σήματα σε μακροχρόνιες αλλαγές της συναπτικής αγωγιμότητας, γνωστές ως **μνήμη μακράς διάρκειας**. Η μνήμη είναι συνδεδεμένη με τη δημιουργία νέων ή με την ενδυνάμωση παλιών συνάψεων. Αυτό συμβαίνει και στην αντίθετη περίπτωση όταν μια συναπτική σύνδεση δεν χρησιμοποιείται, αποδυναμώνεται ή και καταστρέφεται. Τα αποτελέσματα τα αντιλαμβανόμαστε με τις έννοιες “θυμάμαι” και “ξεχνώ”. Συνεπώς, οι συνδέσεις ανάμεσα στους νευρώνες είναι ευέλικτες, ευπροσάρμοστες και μεταβάλλονται ως απάντηση στις εκάστοτε συνθήκες. Εξαιτίας αυτής της πλαστικότητας οι συνάψεις προσαρμόζονται σε εξωγενή σήματα μέσω μακροχρόνιων αλλαγών της αγωγιμότητάς τους. Η αύξηση της συναπτικής αγωγιμότητας, γνωστής ως **μακροχρόνια ενδυνάμωση (LTP, Long-Term Potentiation)**, προκύπτει πολύ γρήγορα και διαρκεί αρκετές ώρες. Αρχικά, τα αποτελέσματα αφορούν μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις σηματοδοτικών πρωτεϊνών (short-term memory) και στη συνέχεια οδηγούν σε *de novo* σύνθεση συναπτικών πρωτεϊνών, που απαιτούν μεταγραφή mRNA και έκφραση γονιδίων (long-term memory) (**Εικόνα 4.85**).

Οι υποδοχείς AMPA ενεργοποιούνται γρήγορα, αλλά απευαισθητοποιούνται μέσα σε λίγα msec και, συνεπώς, είναι ιδανικοί για την άμεση διαβίβαση της πληροφορίας, ενώ αντίθετα, οι υποδοχείς NMDA ενεργοποιούνται αργά και απενεργο-

Εικόνα 4.85
Δημιουργία νέων συνάψεων μέσω του μηχανισμού LTP και αποδυνάμωση των συνάψεων μέσω του μηχανισμού LTD. Οι συνδέσεις ανάμεσα στους νευρώνες είναι ευέλικτες, ευπροσάρμοστες και μεταβάλλονται ως απάντηση στις εκάστοτε συνθήκες. Η μνήμη είναι συνδεδεμένη με τη δημιουργία νέων ή με την ενδυνάμωση παλιών συνάψεων ως απάντηση στην αύξηση της συναπτικής αγωγιμότητας, γνωστής ως μακροχρόνια ενδυνάμωση (LTP). Στην αντίθετη περίπτωση, όταν μια συναπτική σύνδεση δεν χρησιμοποιείται, αποδυναμώνεται ή και καταστρέφεται μέσω του μηχανισμού LTD (Long-Term Depression). Και οι δύο μηχανισμοί ελέγχονται από τους υποδοχείς του γλουταμινικού, την αύξηση του Ca^{2+} και την αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού ακτίνης.



ποιούνται επίσης αργά και ατελώς. Συνεπώς, προκαλούν μια παρατεταμένη είσοδο ιόντων Ca^{2+} , τα οποία δρώντας ως δευτεροί διαβιβαστές ενεργοποιούν μια σειρά σηματοδοτικών γεγονότων, που έχει ως αποτέλεσμα τη μακρόχρονη ενδυνάμωση της συναπτικής σηματοδότησης μεταξύ των νευρώνων. Επιπλέον, ορισμένοι στόχοι των ιόντων Ca^{2+} επιμηκύνουν ακόμη περισσότερο τη διάρκεια της σηματοδότησης. Ένας από τους στόχους του Ca^{2+} , η συνθάση του NO (nNOS), παράγει οξείδιο του αζώτου, το οποίο ως αέριος διαβιβαστής μεταφέρεται στο προσυναπτικό άκρο, όπου μέσω ενός μηχανισμού θετικής ανατροφοδότησης προκαλεί την επιπλέον απελευθέρωση του γλουταμινικού από τον προσυναπτικό νευρώνα. Κατά συνέπεια, το ζευγάρι αυτό των υποδοχέων παίζει κύριο ρόλο στη συναπτική πλαστικότητα, δηλαδή στη μορφοποίηση των συνάψεων (**Εικόνα 4.86**).



Εικόνα 4.86

A. Δημιουργία νέων συνάψεων με τη μορφή δενδριτικών ακάνθων, μέσω του μηχανισμού LTP, όπου κύριο ρόλο παίζουν οι γλουταμινικοί υποδοχείς. Μετά τη μάθηση, η μνήμη δημιουργείται από μεταβολές στη διεγερτική συναπτική διαβίβαση του γλουταμινικού. **B.** Η ενεργοποίηση των υποδοχέων του γλουταμινικού (AMPA-Rs και NMDA-Rs) οδηγούν στην αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} και τη συνακόλουθη ενεργοποίηση σηματοδοτικών οδών που περιλαμβάνουν ενδοκυτταρικές κινάσες, οι οποίες ρυθμίζουν και συντονίζουν την αναδιαμόρφωση του κυτταροσκελετού και των θέσεων εστιακής προσκόλλησης, δημιουργώντας τη μετασυναπτική πυκνότητα (PSD). Η PSD συμβάλλει στη δημιουργία νέων συναπτικών συνδέσεων με τη μορφή δενδριτικών ακάνθων. Οι άμεσες αλλαγές στις πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού και των θέσεων εστιακής προσκόλλησης μετά τη μάθηση συμβάλλουν στη βραχυπρόθεσμη πλαστικότητα και τη μνήμη, ενώ μακροπρόθεσμες αλλαγές, οι οποίες εξαρτώνται από την *de novo* σύνθεση των πρωτεϊνών, απαιτούνται για τη διατήρηση της μακροπρόθεσμης μνήμης. [89]

5. Κανάλια που ελέγχονται από αποθήκες ασβεστίου

Μια τελευταία ομάδα καναλιών κατιόντων είναι τα κανάλια που ελέγχονται από τις αποθήκες ασβεστίου (ΕΔ/ΣΔ). Η διατήρηση της κυτταροπλασματικής συγκέντρωσης Ca^{2+} σε σταθερά επίπεδα εξαρτάται από μηχανισμούς, οι οποίοι εξασφαλίζουν τη συνεχή αναπλήρωση των αποθηκών ασβεστίου, όταν αυτές αδειάζουν. Στην αναπλήρωση των αποθηκών Ca^{2+} κύριο ρόλο παίζει η ATPάση SERCA (Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca^{2+} -ATPase), η οποία βρίσκεται στη μεμβράνη του ΕΔ/ΣΔ και ανακυκλώνει το Ca^{2+} που εξέρχεται, μέσω των υποδοχέων της IP_3 και της ρυανοδίνης, από το ΕΔ στο κυτταρόπλασμα. Ωστόσο, καθώς υπάρχει και κάποια απώλεια Ca^{2+} προς τον εξωκυτταρικό χώρο, το κύτταρο χρησιμοποιεί επιπλέον κανάλια που ελέγχονται από τις αποθήκες ασβεστίου, **SOCCs** (Store-Operated Calcium Channels), τα οποία βρίσκονται στην πλασματική μεμβράνη, ανοίγουν όταν τα επίπεδα Ca^{2+} του ΕΔ μειωθούν αισθητά, και εισάγουν Ca^{2+} μέσα στο κύτταρο. Τα κανάλια SOCCs έχουν έναν διπλό ρόλο, αφενός διατηρούν τις αποθήκες Ca^{2+} γεμάτες και, αφετέρου, σε περίπτωση παρατεταμένης σηματοδότησης του Ca^{2+} (π.χ. σε περίοδο πολλαπλασιασμού του κυττάρου) διατηρούν σταθερά τα επίπεδα Ca^{2+} στο κυτταρόπλασμα.

Υπάρχουν διαφορετικά είδη καναλιών SOCCs, τα οποία διαφέρουν ως προς την εκλεκτικότητα τους στο Ca^{2+} . Έχουν αναγνωρισθεί δύο τύποι καναλιών SOCCs: τα κανάλια CRAC και ορισμένοι υπότυποι των καναλιών TRP (TRPC), των οποίων ο ρόλος όμως είναι αμφιλεγόμενος.

5.1 Κανάλια CRAC

Τα κανάλια **CRAC** (Ca²⁺-Release Activated Ca²⁺ Channels) έχουν πολύ υψηλή εξειδίκευση για τα ιόντα Ca²⁺ έναντι των ιόντων Na⁺ (1.000:1) και πολύ χαμηλή αγωγιμότητα. Βρέθηκαν αρχικά στα T-λεμφοκύτταρα, όπου κατευθύνουν τη σηματοδότηση του Ca²⁺ που ενεργοποιείται από τους υποδοχείς των T-λεμφοκυττάρων (TcR, T-cell Receptors). Η αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca²⁺ που προκαλεί η ενεργοποίηση των TcRs οδηγεί σε επιπλέον αύξηση Ca²⁺ μέσω των καναλιών CRAC, η οποία είναι υπεύθυνη για την απόκριση των T-λεμφοκυττάρων (**Εικόνα 4.87**).

Βασικό ρόλο στην ανακάλυψη των CRAC αποτέλεσε η ανακάλυψη μιας φυτικής λακτόνης, της thapsigargin (TG), η οποία απεδείχθη ισχυρός και εξειδικευμένος αναστολέας της Ca²⁺-ATPase SERCA. Η χρήση της thapsigargin άδειαζε το ΕΔ από Ca²⁺, χωρίς να προηγηθεί διέγερση υποδοχέα, παρακάμπτοντας ουσιαστικά τον υποδοχέα IP₃, ενώ ταυτόχρονα ενεργοποιούνταν ένα ρεύμα εισόδου Ca²⁺ από τον εξωκυτταρικό χώρο στο κυτταρόπλασμα. Το ρεύμα αυτό ήταν όμοιο με αυτό που προκαλούσε η ενεργοποίηση του TcR, γεγονός που οδήγησε στην ανακάλυψη των καναλιών CRAC. Η φυσιολογική λειτουργία των CRAC στα T-λεμφοκύτταρα αποδείχθηκε αργότερα, καθώς loss-of function μεταλλάξεις των καναλιών αυτών οδηγούν σε σοβαρή ανοσοανεπάρκεια SCID (Severe Combined Immunodeficiency) με μη λειτουργικά T-λεμφοκύτταρα.

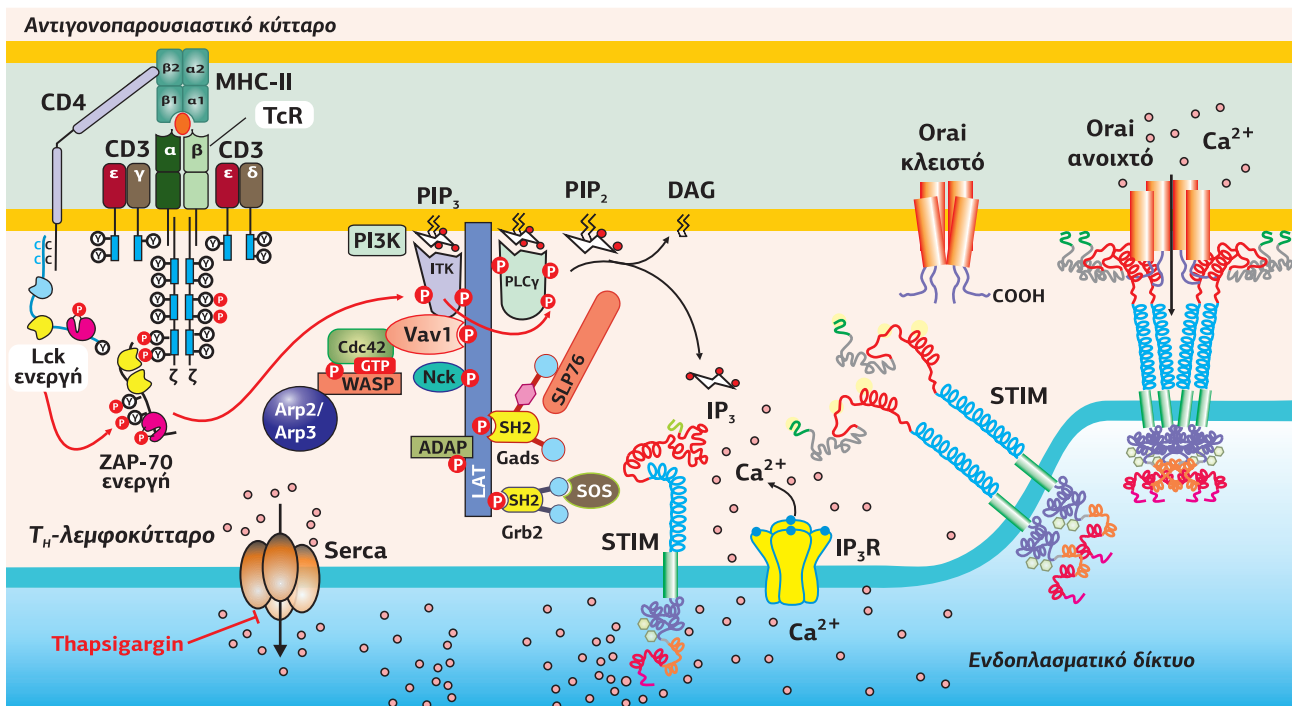
Χαρακτηριστικό παράδειγμα καναλιών CRAC είναι τα κανάλια **Orai**. Ο αριθμός των υπομονάδων από τις οποίες αποτελούνται δεν είναι ξεκάθαρος (4 ή/και 6). Το 2012 η αποκάλυψη της κρυσταλλικής δομής του καναλιού Orai στην *Drosophila* έδειξε ότι αποτελείται από 6 υπομονάδες. Κάθε υπομονάδα περιέχει 4 διαμεμβρανικές (TM1-TM4) περιοχές, με το NH₂- και το COOH-τελικό άκρο στο κυτταρόπλασμα. Οι TM1 περιοχές δημιουργούν τα τοιχώματα του πόρου, ενώ οι TM4 του εξωτερικού τοίχου του καναλιού (**Εικόνα 4.88**).

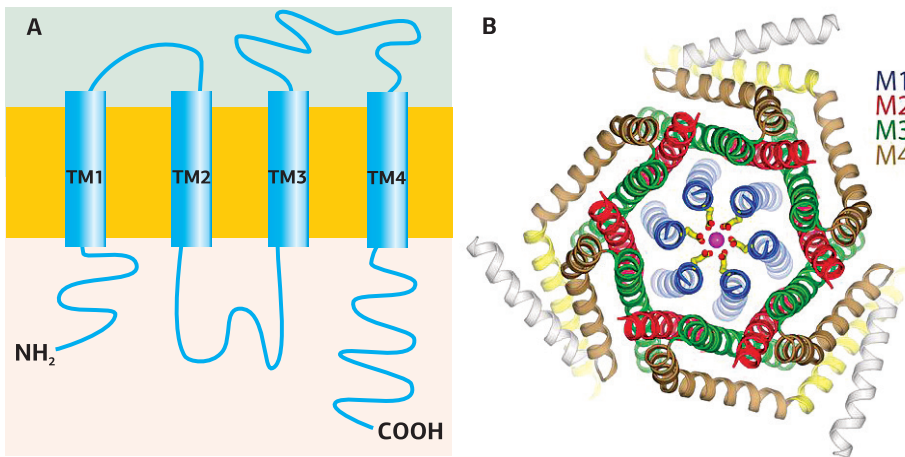
Στο άκρο της COOH-περιοχής υπάρχει μια coiled-coil περιοχή, υπεύθυνη για την αλλαγή διαμόρφωσης και το άνοιγμα του καναλιού, λόγω της σύνδεσής της με μια πρωτεΐνη-αισθητήρα Ca²⁺ της μεμβράνης του ΕΔ/ΣΔ, τη STIM1 (Stromal Interaction Molecule 1). Η STIM1 έχει μια περιοχή σύνδεσης Ca²⁺ (EF-χέρι), μέσω

Εικόνα 4.87

Ο ρόλος των CRAC (Orai) στη λειτουργία των T-λεμφοκυττάρων.

Στην εικόνα διακρίνεται ο TcR, ο οποίος αποτελείται από α-ζ υπομονάδες, και ο συνυποδοχέας CD4. Η ενεργοποίηση του TcR από το συνδεδεμένο στο MHC αντιγόνο, ενεργοποιεί αρχικά την κινάση Lck, η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει την κινάση ZAP-70. Μετά από μια αλληλουχία αντιδράσεων ενεργοποιείται η PLCγ, η οποία παράγει DAG και IP₃. Η IP₃ ενεργοποιεί τον IP₃R του ΕΔ και εξέρχονται ιόντα Ca²⁺ στο κυτταρόπλασμα. Η αύξηση αυτή του κυτταροπλασματικού Ca²⁺ (και η επακόλουθη μείωση του Ca²⁺ του ΕΔ) προκαλεί το άνοιγμα των CRAC (Ca²⁺-Release Activated Ca²⁺ Channels) μετά από τη σύνδεση στις πρωτεΐνες STIM. Από τα CRAC εισέρχεται εξωκυτταρικό Ca²⁺, υπεύθυνο για τη δράση των T-λεμφοκυττάρων (ενεργοποίηση της μεταγραφής των γονιδίων των κυτοκινών). [32] [33]



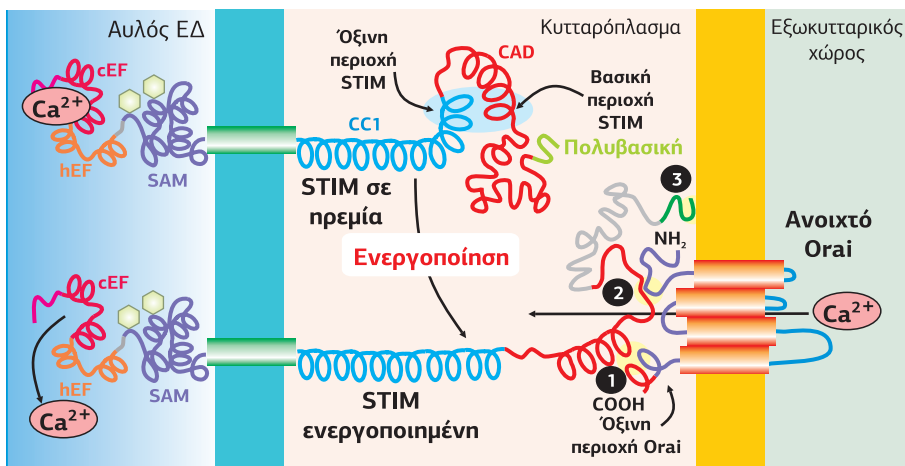


Εικόνα 4.88
Δομή των καναλιών Orai.
 A. Η κάθε υπομονάδα των καναλιών Orai αποτελείται από 4 διαμεμβρανικές περιοχές (TM1-TM4) και το NH₂- και COOH-άκρο στο κυτταρόπλασμα. [112]
 B. Η ανακάλυψη της κρυσταλλικής δομής των Orai στην *Drosophila* έδειξε ότι τα κανάλια αποτελούνται από έξι υπομονάδες. Οι TM1 διαμεμβρανικές α-έλικες (μπλε) των έξι υπομονάδων δημιουργούν τα εσωτερικά τοιχώματα του πόρου και οι TM4 (καφέ) τα εξωτερικά τοιχώματα του καναλιού. [88]

της οποίας αντιλαμβάνεται τα επίπεδα Ca²⁺ μέσα στο ΕΔ. Όταν τα επίπεδα μειωθούν αισθητά, το Ca²⁺ απομακρύνεται από το EF-χέρι της STIM1, αυτή αλλάζει διαμόρφωση, συνδέεται με το κανάλι Orai προκαλώντας το άνοιγμά του. Ιόντα Ca²⁺ εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα και αυτή η αύξηση της συγκέντρωσης του κυτταροπλασματικού Ca²⁺ ενεργοποιεί την ΑΤΡάση SERCA, η οποία εισάγει το Ca²⁺ στο ΕΔ, ώστε να ξαναγεμίσει η αποθήκη (Εικόνα 4.89).

Αν και η φύση του σήματος που ξεκινά από το ΕΔ και ενεργοποιεί τα SOCCs της πλασματικής μεμβράνης δεν είναι πλήρως κατανοητή, θεωρείται ότι δεν συμμετέχει όλο το ΕΔ σε αυτήν την ενεργοποίηση, αλλά μόνο μια μικρή, εξειδικευμένη περιοχή του ΕΔ, η οποία βρίσκεται σε στενή σύνδεση με την πλασματική μεμβράνη.

Το όνομα του καναλιού **Orai** προέρχεται από τις Ώρες, θεότητες των καιρών και του χρόνου της αρχαίας Ελλάδας. Έργο τους ήταν να παρακολουθούν τα έργα των ανθρώπων. Από τον Όμηρο μαθαίνουμε πως άνοιγαν και έκλειναν τις πύλες του Ολύμπου με σύννεφα και φρόντιζαν τα άλογα της Ήρας. Επίσης, μαζί με τις Χάριτες και τις Μοίρες οδήγησαν την Περσεφόνη από τον Άδη στο φως.

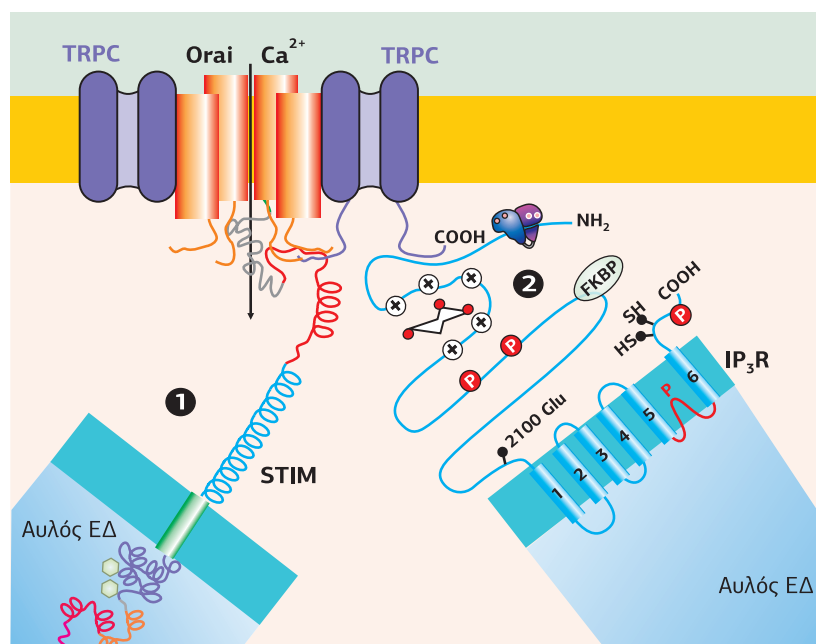


Εικόνα 4.89
Ενεργοποίηση των καναλιών Orai μέσω της φυσικής τους σύνδεσης με τις πρωτεΐνες STIM. Τα κανάλια Orai ελέγχονται από τα επίπεδα Ca²⁺ μέσα στο ΕΔ/ΣΔ, γι' αυτό ένα κρίσιμο γεγονός για την ενεργοποίησή τους αποτελεί η αλληλεπίδραση με τις πρωτεΐνες STIM της μεμβράνης του ΕΔ/ΣΔ, οι οποίες λειτουργούν ως αισθητήρες της συγκέντρωσης του Ca²⁺ μέσα στο ΕΔ/ΣΔ. Όταν η συγκέντρωση Ca²⁺ στον αυλό του ΕΔ μειώνεται, τα ιόντα Ca²⁺ απομακρύνονται από το EF-χέρι της STIM, με αποτέλεσμα την αλλαγή διαμόρφωσης της STIM, την αλληλεπίδρασή της με το Orai και το άνοιγμα του καναλιού. CAD: CRAC Activation Domain, SAM: Sterile Alpha-Motif, CC1, CC2: Conserved Cysteines, cEF: canonical EF-hand, hEF: ένα EF-χέρι που δεν δεσμεύει Ca²⁺. [90]

5.2 | Κανάλια TRPC με ρόλο SOCCs

Άλλο είδος SOCCs θεωρούνται τα κανάλια TRPC. Ωστόσο, ο ακριβής τους ρόλος και η σύνδεσή τους με τις αποθήκες Ca²⁺ δεν είναι ξεκάθαρος. Έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί για τον ρόλο των TRPC. α. Τα TRPC της πλασματικής μεμβράνης ελέγχονται από τις αποθήκες Ca²⁺ μέσω της άμεσης σύνδεσής τους με τους υποδοχείς της IP₃ ή της ρυανοδίνης της μεμβράνης του ΕΔ/ΣΔ. β. Τα TRPC είναι απαραίτητα για το άνοιγμα των Orai καθώς δημιουργούν σύμπλεγμα TRPC/Orai/STIM (Εικόνα 4.90).

Εικόνα 4.90
 Προτεινόμενοι μηχανισμοί για το άνοιγμα των καναλιών TRPC με ρόλο SOCCs. Τα κανάλια TRPC είτε συνδέονται με τον IP_3R του ΕΔ, το άνοιγμα των οποίων οδηγεί στο άνοιγμα των TRPC (2), είτε δημιουργούν σύμπλεγμα με τα κανάλια Orai και ανοίγουν μετά τη σύνδεση με τις πρωτεΐνες STIM, όταν αυτές αντιλαμβάνονται τη μείωση της συγκέντρωσης Ca^{2+} μέσα στο ΕΔ/ΣΔ (1). [61]



6. Κανάλια Ανιόντων

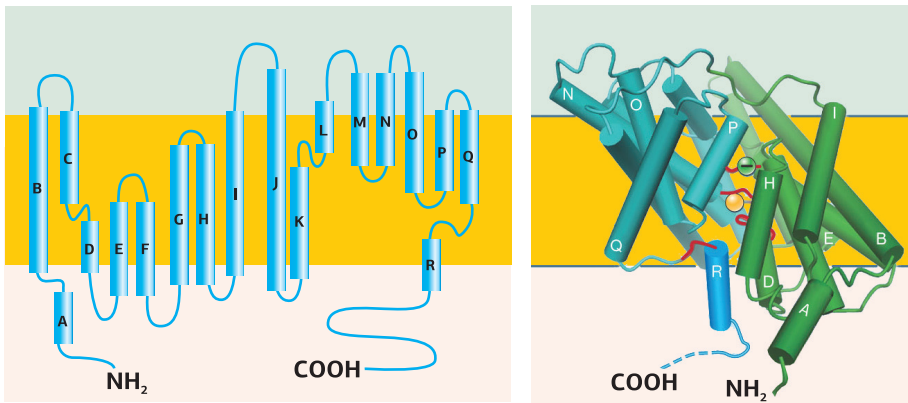
Τα κανάλια ανιόντων βρίσκονται σε όλους τους οργανισμούς, από τους απλούστερους προκαρυωτικούς έως τα θηλαστικά. Ωστόσο, μόλις τα τελευταία χρόνια άρχισαν να μελετώνται εκτεταμένα. Εκτός από το Cl^- , είναι διαπερατά στο Br^- , I^- , NO_3^- και σε άλλα αρνητικά φορτισμένα ιόντα. Στα ζώα τον κύριο ρόλο παίζουν τα κανάλια Cl^- , το άνοιγμα των οποίων μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα είτε την εκπόλωση είτε την υπερπόλωση του κυττάρου, ανάλογα με τη βαθμίδωση των ιόντων Cl^- εκατέρωθεν της μεμβράνης. Όταν η συγκέντρωση των ιόντων Cl^- στο κυτταρόπλασμα είναι πολύ χαμηλότερη από τον εξωκυτταρικό χώρο, το Cl^- εισέρχεται στο κύτταρο παρά το αρνητικό ενδοκυτταρικό δυναμικό. Ως συνέπεια, το ενδοκυτταρικό δυναμικό γίνεται αρνητικότερο και το κύτταρο υπερπολώνεται. Αυτή είναι η περίπτωση των σκελετικών κυττάρων και των περισσότερων νευρικών. Σε άλλους τύπους κυττάρων, όπως τα λεία μυϊκά κύτταρα, η βαθμίδωση της συγκέντρωσης των ιόντων Cl^- δεν είναι αρκετή για να υπερκαλύψει την ηλεκτρική δύναμη λόγω διαφοράς δυναμικού. Σε αυτήν την περίπτωση, το άνοιγμα των καναλιών Cl^- έχει ως αποτέλεσμα την έξοδο Cl^- και την εκπόλωση του κυττάρου. Στα σπονδυλωτά υπάρχουν τρεις οικογένειες καναλιών Cl^- :

1. Η οικογένεια CIC (Cl Channel).
2. Η οικογένεια CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator).
3. Η οικογένεια των προσδετο-εξαρτώμενων καναλιών, υποδοχέων GABA, την οποία έχουμε αναλύσει στην προηγούμενη ενότητα.

Οι κύριες λειτουργίες αυτών των καναλιών είναι ο έλεγχος του κυτταρικού όγκου και η ωσμωτικότητα, η μεταφορά ηλεκτρολυτών διαμέσου των επιθηλιακών κυττάρων, η ρύθμιση του ενδοκυτταρικού pH, η επαναφορά του δυναμικού ηρεμίας και η ανασταλτική νευροδιαβίβαση.

6.1 Κανάλια ανιόντων τύπου CIC

Τα κανάλια Cl^- είναι μια οικογένεια καναλιών ιόντων ελάχιστα κατανοητή, η οποία αποτελείται από περίπου 13 μέλη με σημαντικούς φυσιολογικούς και κυτταρικούς λειτουργικούς ρόλους, όπως η ρύθμιση του pH, η ομοίωση του κυτ-

**Εικόνα 4.91**

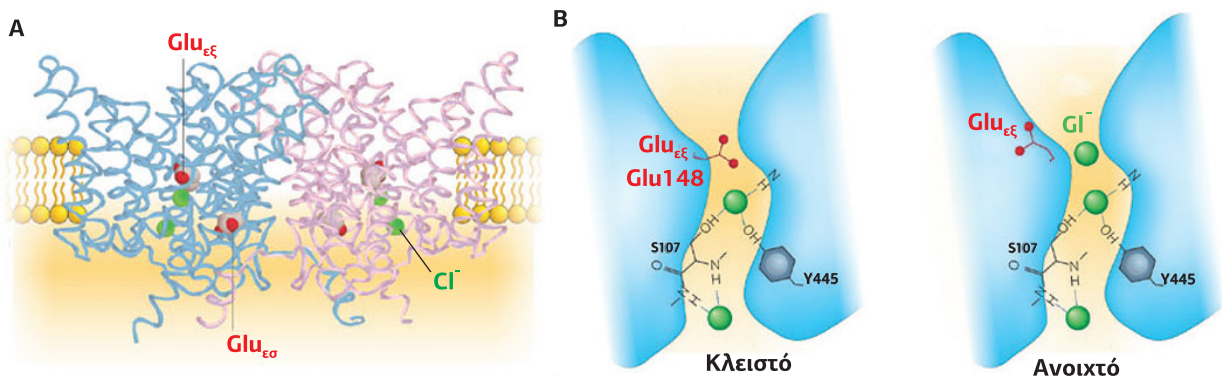
Τα κανάλια ιόντων Cl^- CIC αποτελούνται από δύο υπομονάδες, με 18 α -έλικες η καθεμία. Από τις 18 α -έλικες (A-R) οι 17 διαπερνούν μερικώς ή ολικώς τη μεμβράνη, ενώ μία (η A) βρίσκεται στην NH_2 -τελική περιοχή στο κυτταρόπλασμα. Στις δύο εικόνες διακρίνεται μία μόνο υπομονάδα. [49]

ταρικού όγκου, η κυτταρική μετανάστευση, ο πολλαπλασιασμός και η κυτταρική διαφοροποίηση. Το πρώτο κανάλι CIC-0 αναγνωρίστηκε και κλωνοποιήθηκε από τον Thomas J Jentsch, Universität Hamburg, (1990) στο ηλεκτρικό όργανο του Torpedo. Έκτοτε, αναγνωρίστηκαν 12 διαφορετικές isoμορφές. Ο τύπος αυτός καναλιών προέρχεται εξελικτικά από τους προκαρυώτες, όπου ρυθμίζει τον όγκο των μικρών βακτηριακών κυττάρων, και γι' αυτό η δομή τους είναι όμοια με του καναλιού **EcCIC** της *Escherichia coli*, ενώ διαφέρει από τη δομή των καναλιών κατιόντων. Τα κανάλια CIC αποτελούνται από δύο όμοιες υπομονάδες με 18 α -έλικες η καθεμία, 17 από τις οποίες διαπερνούν τη μεμβράνη μερικώς ή ολικώς, ενώ μία είναι κυτταροπλασματική (**Εικόνα 4.91**). Σε αντίθεση με τα κανάλια κατιόντων, η κάθε υπομονάδα του EcCIC δημιουργεί έναν ξεχωριστό πόρο και, συνεπώς, τα κανάλια αυτά έχουν δύο πόρους.

Τα κανάλια CIC ανοίγουν, όπως και τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια κατιόντων, έπειτα από εκπόλωση. Ωστόσο, καθώς απουσιάζει ο αισθητήρας τάσης S4, χρησιμοποιούν άλλον μηχανισμό, όπου σημαντικό ρόλο παίζει η συγκέντρωση των ιόντων Cl^- . Το άνοιγμα και το κλείσιμο των καναλιών CIC ελέγχεται από δύο διακριτούς μηχανισμούς. Ο ένας μηχανισμός ονομάζεται "**fast gating**" και ελέγχει το άνοιγμα και το κλείσιμο του κάθε πόρου ξεχωριστά, κυρίως μέσω ενός καλά συντηρημένου γλουταμινικού (Glu148), του οποίου η αρνητικά φορτισμένη πλευρική αλυσίδα μπλοκάρει την πύλη του καναλιού. Ο κάθε πόρος του καναλιού περιέχει τρεις θέσεις σύνδεσης ιόντων Cl^- . Όταν η εξωκυτταρική συγκέντρωση Cl^- είναι χαμηλή, η θέση Cl^- που βρίσκεται κοντά στην πύλη καλύπτεται από την αρνητικά φορτισμένη πλευρική αλυσίδα γλουταμινικού Glu148 και το κανάλι κλείνει. Όταν η συγκέντρωση του εξωκυτταρικού Cl^- αυξηθεί, τα ιόντα Cl^- συναγωνίζονται την πλευρική αλυσίδα του γλουταμινικού, συνδέονται στη θέση σύνδεσης Cl^- και το κανάλι ανοίγει. Ο δεύτερος μηχανισμός ονομάζεται "**slow gating ή common gating**" και ελέγχει το άνοιγμα των δύο πόρων ταυτόχρονα. Αν και δεν είναι όμως ακόμη πλήρως κατανοητός ο μηχανισμός, σημαντικό ρόλο φαίνεται να παίζει η αλληλεπίδραση των δύο υπομονάδων (**Εικόνα 4.92**).

Εικόνα 4.92

A. Διακρίνονται οι δύο υπομονάδες του καναλιού CIC-1 (σιέλ, ροζ) στη λιπιδική διπλοστιβάδα. Τα ιόντα Cl^- παρουσιάζονται ως πράσινες σφαίρες, ενώ τα δύο γλουταμινικά με την αρνητικά φορτισμένη πλευρική τους αλυσίδα (ένα προς την εσωτερική και ένα προς την εξωτερική πύλη) διακρίνονται ως κόκκινες σφαίρες. B. Αναπαράσταση των τριών θέσεων σύνδεσης Cl^- στην ανοιχτή και κλειστή διαμόρφωση του καναλιού, η οποία προσδιορίζεται από τη θέση της πλευρικής αλυσίδας του γλουταμινικού. Στην κλειστή διαμόρφωση διακρίνονται δύο Cl^- συνδεδεμένα στο εσωτερικό του πόρου, ενώ στην ανοιχτή διακρίνεται και το τρίτο Cl^- που συναγωνίζεται με την αρνητικά φορτισμένη πλευρική αλυσίδα του γλουταμινικού, στην εξωτερική πύλη. [71]



Εικόνα 4.93
Τα κανάλια CIC-K εκφράζονται κυρίως στην αγκύλη του Henle στους νεφρούς και στα περιφερειακά κύτταρα (marginal cells) της αγγειακής ράβδωσης στο εσωτερικό αυτί. Α. Στο λεπτό ανοδικό τμήμα της καμπύλης του Henle τα κανάλια CIC-Ka/barttin είναι υπεύθυνα για την είσοδο Cl⁻ στα επιθηλιακά κύτταρα από τον αυλό του νεφρώνα και, εν συνεχεία, για την έξοδο Cl⁻ στο διάμεσο υγρό, δηλαδή είναι υπεύθυνα για την επαναρρόφηση του Cl⁻. Στο παχύ ανοδικό τμήμα της καμπύλης Henle τα κανάλια CIC-Kb/barttin βρίσκονται μόνο στη βασο-πλευρική μεμβράνη, όπου είναι υπεύθυνα για την έξοδο του Cl⁻ στο διάμεσο υγρό, η οποία είναι απαραίτητη για την επαναρρόφηση του NaCl. Β. Τα περιφερειακά κύτταρα της αγγειακής ράβδωσης στο εσωτερικό αυτί απορροφούν K⁺ από το ενδιάμεσο υγρό και το απελευθερώνουν στην ενδολέμφο.

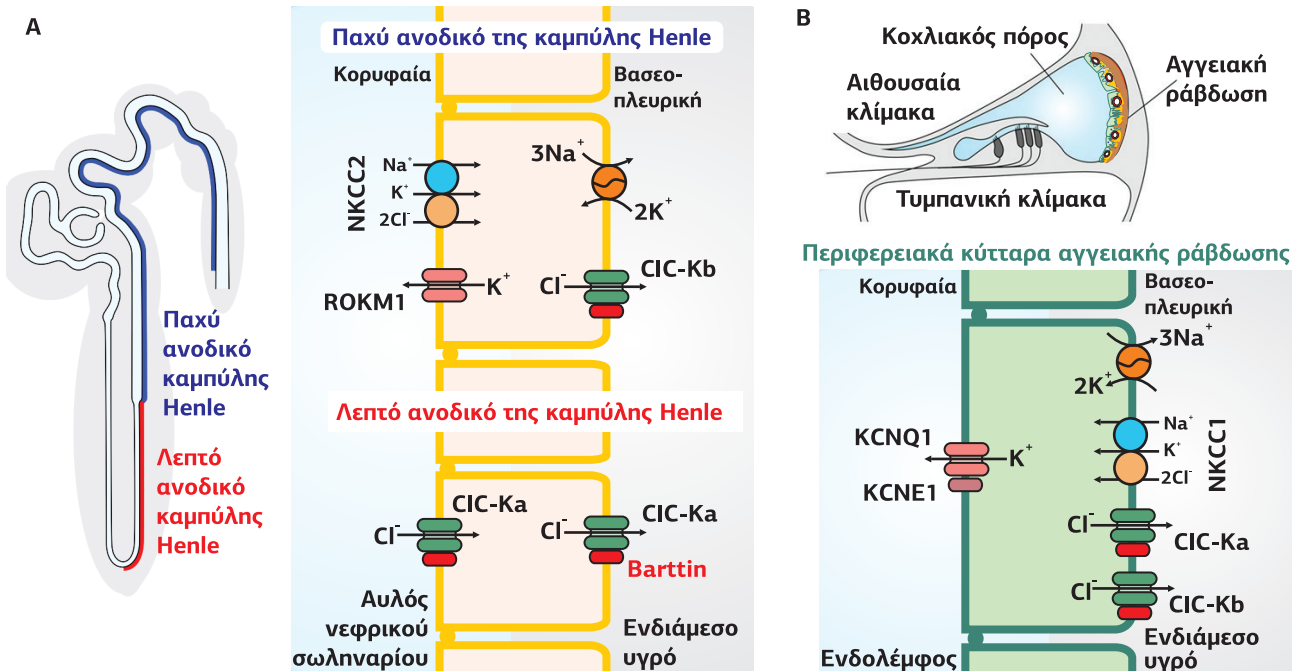
Η επαναφορά K⁺ στην ενδολέμφο απαιτεί την πρόσληψη K⁺ μέσω του συμμεταφορέα Na⁺/K⁺/2Cl⁻ (NKCC1) και της Na⁺/K⁺-ΑΤΡάσης, που βρίσκονται στη βασο-πλευρική μεμβράνη, και της έκκρισης K⁺ μέσω των καναλιών KCNQ1, που δημιουργούν τον πόρο και της συμπληρωματικής υπομονάδας KCNE1. Τα κανάλια CIC-Ka και CIC-Kb είναι υπεύθυνα για την επαναφορά του Cl⁻ στο διάμεσο υγρό, η οποία είναι απαραίτητη για τη λειτουργία του συμμεταφορέα Na⁺/K⁺/2Cl⁻. [31]

Οι διάφορες ισομορφές διαφέρουν ως προς τον ρόλο και την κατανομή. Για παράδειγμα, ο τύπος **CIC-1** εκφράζεται αποκλειστικά στα σκελετικά μυϊκά κύτταρα, όπου επαναφέρει το δυναμικό ηρεμίας (σε αντίθεση με τα νευρικά κύτταρα, όπου αυτόν τον ρόλο τον έχουν αναλάβει τα κανάλια K⁺). Ανοίγουν μετά την εκπόλωση που προκαλεί τη σύσπαση των σκελετικών κυττάρων και βάζοντας μέσα στο κύτταρο Cl⁻ επαναφέρουν το δυναμικό της μεμβράνης στην κατάσταση ηρεμίας οδηγώντας το κύτταρο σε χάλαση (βλ. **Εικόνα 4.10**). Η αναστολή λειτουργίας των CIC-1 προκαλεί μυοτονία, λόγω της παρατεταμένης μυϊκής σύσπασης. Ο τύπος **CIC-2** έχει μια πιο γενικευμένη έκφραση και συμμετέχει στη ρύθμιση του ενδοκυτταρικού pH και του κυτταρικού όγκου.

Ένα άλλο χαρακτηριστικό κανάλι Cl⁻ είναι το **CIC-K**, το οποίο εκφράζεται κυρίως στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων και στο εσωτερικό αυτί. Ανάλογα με τη θέση των επιθηλιακών καναλιών CIC-K στην κορυφαία (apical) ή στη βασο-πλευρική (basolateral) πλευρά της μεμβράνης καθορίζεται και η κατεύθυνση της μετακίνησης Cl⁻ (**Εικόνα 4.93**). Το άνοιγμα των καναλιών στην κορυφαία πλευρά της μεμβράνης οδηγεί στην είσοδο Cl⁻, ενώ στη βασο-πλευρική στην έξοδο και συνεπώς στην επαναρρόφηση Cl⁻. Σε αρκετές περιπτώσεις η είσοδος Cl⁻ γίνεται μέσω του συμμεταφορέα Na⁺/K⁺/2Cl⁻ (NKCC2).

Το CIC-K δημιουργεί ένα σύμπλεγμα με μια ρυθμιστική υπομονάδα, που αποτελείται από δύο διαμεμβρανικές περιοχές και ονομάζεται **barttin**. Η πρωτεΐνη αυτή είναι υπεύθυνη για τη σταθερότητα του καναλιού, διεγείρει τη μεταφορά του από το ΕΔ στην πλασματική μεμβράνη, και μεταβάλλει τη λειτουργία του επηρεάζοντας τον μηχανισμό ανοίγματος λόγω εκπόλωσης. Το όνομά της προέρχεται από το σύνδρομο Bartter, το οποίο χαρακτηρίζεται από σοβαρή δυσλειτουργία του ισοζυγίου αλάτων, κυρίως υποκαλιαιμία, λόγω loss-of-function μεταλλάξεων της πρωτεΐνης barttin και των καναλιών CIC-K. Οι μεταλλάξεις αυτές οδηγούν σε απώλεια αλάτων από τους νεφρούς, καθώς και σε κώφωση λόγω μειωμένης συγκέντρωσης K⁺ στην ενδολέμφο.

Τα επιθηλιακά κύτταρα στο παχύ ανοδικό τμήμα της καμπύλης του Henle προσλαμβάνουν το NaCl από τον αυλό του νεφρώνα με τη βοήθεια του συμμεταφορέα Na⁺/K⁺/2Cl⁻ (NKCC2). Αυτός ο συμμεταφορέας κατευθύνεται από



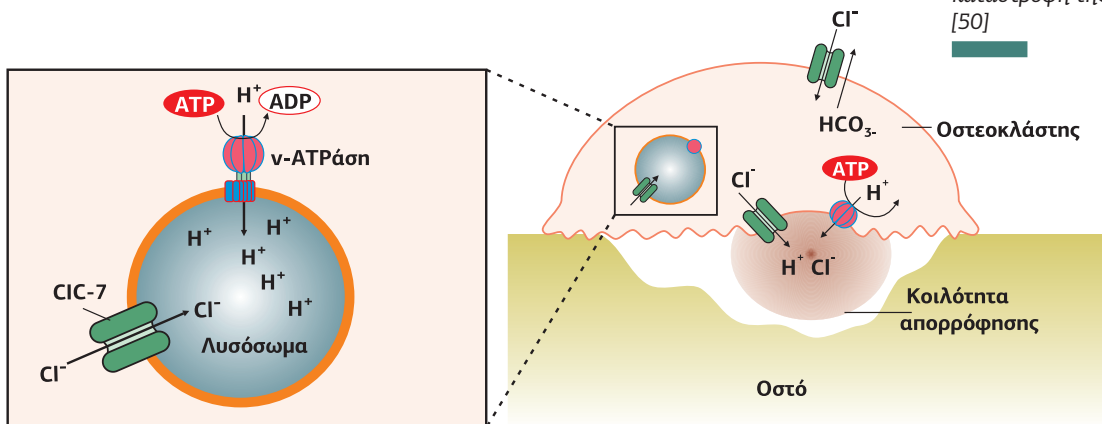
τις χαμηλές ενδοκυτταρικές συγκεντρώσεις του Na^+ και του Cl^- που δημιουργούνται από την Na^+/K^+ -ΑΤΡάση και τα κανάλια ClC-Kb , τα οποία βρίσκονται στη βασο-πλευρική μεμβράνη και επιστρέφουν τα ιόντα Na^+ και Cl^- στο αίμα. Επιπλέον, τα ιόντα K^+ επιστρέφουν στον αυλό μέσω των καναλιών επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ (Kir1.1 ή ROMK : Renal Outer Medullary Potassium channel). Δυσλειτουργία των καναλιών ClC-K αναστέλλει τον συμμεταφορέα, με αποτέλεσμα την απομάκρυνση Na^+ και K^+ μέσω των ούρων.

Με ανάλογο μηχανισμό γίνεται και η επαναφορά του K^+ στην ενδολέμφο. Η ενδολέμφος, σε αντίθεση με τον εξωκυττάριο χώρο στον υπόλοιπο οργανισμό, είναι πλούσια σε K^+ (150 mM). Η ενεργοποίηση των τριχοκυττάρων από το ακουστικό κύμα οδηγεί σε είσοδο ιόντων K^+ στα τριχοκύτταρα. Το K^+ μέσω χασμοσυνδέσμων μεταφέρεται στα κύτταρα της αγγειακής ράβδωσης (βλ. **Εικόνα 2.20**). Εκεί τα περιφερειακά κύτταρα προσλαμβάνουν το K^+ μέσω του συμμεταφορέα $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ (NKCC1) και της Na^+/K^+ -ΑΤΡάσης, που βρίσκονται στη βασο-πλευρική μεμβράνη και το απελευθερώνουν στην ενδολέμφο μέσω των καναλιών KCNQ1 , τα οποία δημιουργούν τον πόρο, και της συμπληρωματικής τους υπομονάδας KCNE1 . Τα κανάλια ClC-Ka και ClC-Kb μεσολαβούν στην επαναφορά του Cl^- πίσω στο διάμεσο υγρό, η οποία είναι απαραίτητη για τη λειτουργία του συμμεταφορέα $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$ (NKCC1).

Το κανάλι **ClC-7** συμμετέχει στην απορρόφηση της οστικής μάζας. Αυτή η λειτουργία πραγματοποιείται από ένα είδος φαγοκυττάρων, τους οστεοκλάστες, οι οποίοι παράγουν όξινη υδρολάση που διαλύουν την οστική μάζα. Μέσα στα λυσοσωμικά κυστίδια των οστεοκλαστών το όξινο περιβάλλον δημιουργείται από H^+ -εξαρτώμενες ΑΤΡάσεις, οι οποίες μεταφέρουν H^+ από τον ενδοκυτταρικό χώρο στα κυστίδια. Για να επιτευχθεί ηλεκτρική ουδετερότητα, η είσοδος H^+ στα κυστίδια αντισταθμίζεται από την είσοδο Cl^- μέσω των καναλιών ClC-7 . Στη συνέχεια, τα κυστίδια συντήκονται με τη μεμβράνη του οστεοκλάστη και απελευθερώνουν HCl (**Εικόνα 4.94**). Η απορρόφηση της οστικής μάζας είναι πολύ μεγάλης σημασίας για την ανάπτυξη του σκελετού και την ανάπλαση των οστών έπειτα από σπάσιμο.

Εικόνα 4.94

Ο ρόλος των καναλιών ClC-7 στην καταστροφή της θεμέλιας ουσίας των οστών από τους οστεοκλάστες. Η H^+ -ΑΤΡάση δημιουργεί στα λυσοσωμικά κυστίδια όξινο περιβάλλον, το οποίο εξουδετερώνεται από την είσοδο Cl^- μέσω των καναλιών ClC-7 , απουσία των οποίων η αντλία πρωτονίων παύει να λειτουργεί. Στη συνέχεια, τα κυστίδια συντήκονται με τη μεμβράνη, όπου η H^+ -ΑΤΡάση και τα κανάλια ClC-7 απελευθερώνουν HCl , δημιουργώντας το όξινο περιβάλλον που απαιτείται για την καταστροφή της οστικής μάζας. [50]



Μια κατηγορία καναλιών Cl^- είναι τα κανάλια Cl^- που αποκρίνονται στην αύξηση του ενδοκυτταρικού Ca^{2+} . Το άνοιγμα των καναλιών αυτών απαιτεί μια β -υπομονάδα, όμοια με αυτή των καναλιών K^+ που εξαρτώνται από το Ca^{2+} (BK). Η Ca^{2+} /καλμοδουλινο-εξαρτώμενη πρωτεϊνική κινάση II (CaMK-II) παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση των καναλιών αυτών. Η Ca^{2+} -ευαίσθητη ροή των ιόντων Cl^- συμμετέχει σε διάφορες κυτταρικές λειτουργίες, όπως για παράδειγμα στον μηχανισμό της όσφρησης, όπου η αύξηση των ιόντων Ca^{2+} που εισέρχονται από τα cAMP -εξαρτώμενα κανάλια ενεργοποιεί την έξοδο ιόντων Cl^- ενισχύοντας το σήμα εκπόλωσης (βλ. **Εικόνα 4.38**).

6.2 Κανάλια ανιόντων τύπου CFTR

Το κανάλι (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) παίζει σημαντικό ρόλο στην ορμονική ρύθμιση των βλεννώδων επιθηλίων. Μεταλλάξεις loss-of-function του γονιδίου *cftr*, που οδηγούν σε μειωμένη διαπερατότητα του καναλιού, προκαλούν μια σοβαρή και θανατηφόρα κληρονομική ασθένεια, την κυστική ίνωση, η οποία χαρακτηρίζεται από μαζική διαταραχή του ισοζυγίου H_2O και ηλεκτρολυτών. Ως αποτέλεσμα, η βλεννώδης επιφάνεια των επιθηλιακών κυττάρων αφυδατώνεται και εκκρίνει μεγάλες ποσότητες βλέννας που καταστρέφουν τη λειτουργία της και διευκολύνουν τις βακτηριακές μολύνσεις, ιδιαίτερα στην αναπνευστική και γαστρεντερική οδό.

Ανάμεσα στα κανάλια ιόντων, το CFTR είναι μοναδικό γιατί ανήκει στην οικογένεια των ABC (ATP-Binding Cassette) πρωτεϊνών, οι οποίες κυρίως μεταφέρουν οργανικά μόρια και όχι ιόντα. Όπως οι περισσότεροι ABC μεταφορείς, ο CFTR αποτελείται από 12 διαμεμβρανικές περιοχές, οργανωμένες σε δύο ομάδες των 6, καθώς και δύο περιοχές σύνδεσης του ATP, η δεύτερη με δράση ATPάσης, στην κυτταροπλασματική τους περιοχή. Επιπλέον, αποτελούνται από μια ρυθμιστική περιοχή (R, Regulatory), η οποία περιέχει θέσεις φωσφορυλίωσης από cAMP- και cGMP-εξαρτώμενες κινάσες, και δεν συναντάται σε άλλες ABC πρωτεΐνες. Η COOH-τελική περιοχή είναι συνδεδεμένη μέσω PDZ περιοχών με πρωτεΐνες του κυτταροσκελετού (Εικόνα 4.95).

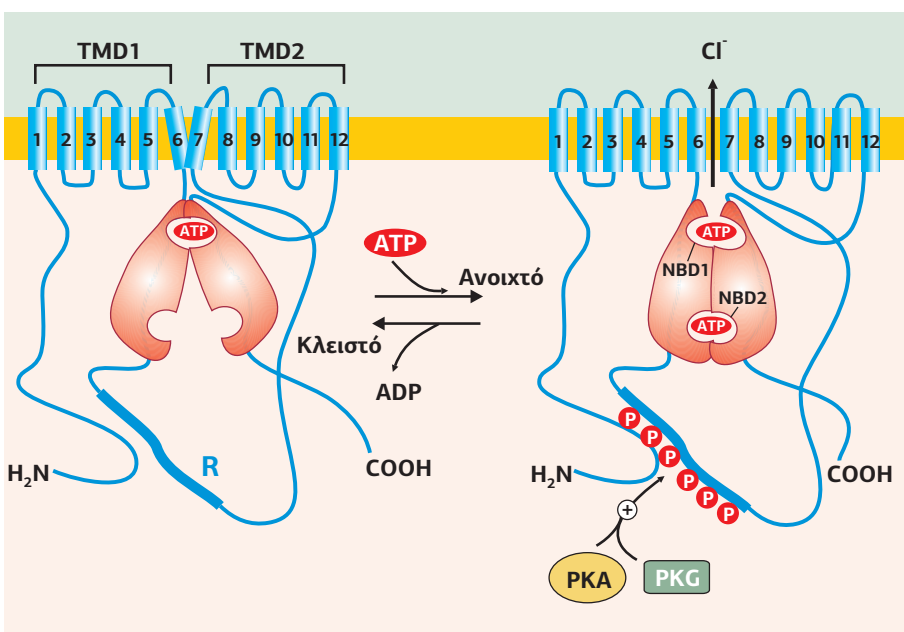
Το άνοιγμα των καναλιών CFTR υπόκειται σε έναν διπλό έλεγχο: απαιτεί τη φωσφορυλίωση της ρυθμιστικής υπομονάδας και τη σύνδεση δύο μορίων ATP. Το πρώτο ATP παραμένει μόνιμα συνδεδεμένο στη μία θέση σύνδεσης νουκλεοτιδίων (NBD1, Nucleotide Binding Domain), ενώ η σύνδεση του δεύτερου ATP στη θέση NBD2 οδηγεί σε αλλαγή της διαμόρφωσης του καναλιού, φέρνοντας κοντά τις δύο ομάδες των 6 διαμεμβρανικών περιοχών, και ανοίγει το κανάλι. Η υδρόλυση του δεύτερου ATP από την εσωτερική δραστηριότητα ATPάσης της NBD2 και η απο-φωσφορυλίωση της R περιοχής κλείνει το κανάλι.

Εικόνα 4.95

Δομή του καναλιού CFTR.

Το κανάλι Cl^- CFTR είναι μια μονομερής πρωτεΐνη που αποτελείται από δύο ομάδες των 6 διαμεμβρανικών περιοχών, οι οποίες συνδέονται μεταξύ τους με ένα μεγάλο ενδοκυτταρικό βρόχο. Το NH_2 - και το COO-τελικό άκρο βρίσκονται ενδοκυτταρικά. Χαρακτηριστικές περιοχές του καναλιού είναι η ρυθμιστική περιοχή (R), η οποία περιέχει θέσεις φωσφορυλίωσης, και οι δύο περιοχές σύνδεσης νουκλεοτιδίων (NBD1, NBD2). Στην NBD1 το ATP είναι μόνιμα συνδεδεμένο, ενώ η σύνδεση του ATP στη NBD2 αλλάζει τη διαμόρφωση του καναλιού και ανοίγει τον πόρο. Η υδρόλυση του ATP από την NBD2 οδηγεί στο κλείσιμο του καναλιού.

[87]



Το CFTR βρίσκεται σε επιθηλιακά κύτταρα πολλών οργάνων, όπως στους πνεύμονες, στο συκώτι, το πάγκρεας, την πεπτική οδό και την επιδερμίδα. Συνήθως, τα κανάλια αυτά βγάζουν Cl^- έξω από τα επιθηλιακά κύτταρα προς την πλευρά που καλύπτεται με βλέννα. Κατιόντα Na^+ ακολουθούν τα Cl^- ώστε να διατηρηθεί η πλε-

κτρική ισορροπία. Αυτό αυξάνει τη συγκέντρωση των ηλεκτρολυτών στην περιοχή της βλέννας, με αποτέλεσμα την έξοδο H_2O μέσω ώσμωσης.

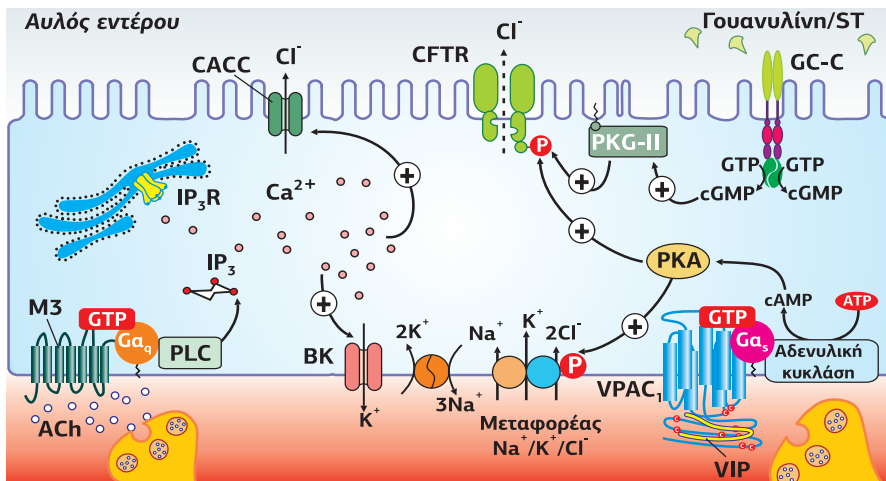
Ενώ η απενεργοποίηση του CFTR οδηγεί σε υπερέκκριση βλέννας, η υπερενεργοποίησή του έχει το αντίθετο αποτέλεσμα. Αυτό εξηγεί το αποτέλεσμα πολλών βακτηριακών τοξινών που στοχεύουν στο μεταγωγικό μονοπάτι του CFTR. Οδηγούν σε καταστροφική απώλεια αλάτων και H_2O , ειδικά στο εντερικό επιθήλιο. Οι θερμοανθεκτικές τοξίνες των βακτηρίων προκαλούν διάρροια μέσω υπερενεργοποίησης του υποδοχέα γουανυλική κυκλάση, η οποία παράγει cGMP που ενεργοποιεί την κινάση PKG-II, η οποία φωσφορυλιώνει και διατηρεί ανοικτό το CFTR.

Ο ρόλος των καναλιών CFTR στην έκκριση υγρών από το εντερικό επιθήλιο, και η ρύθμισή τους

Η έκκριση υγρών στο λεπτό έντερο κατευθύνεται από τη ροή ιόντων Cl^- από το πλάσμα του αίματος προς στον αυλό του εντέρου. Τα Cl^- εισέρχονται διαμέσου της βασεοπλευρικής μεμβράνης στα εντεροκύτταρα με τη βοήθεια του συμμεταφορέα $Na^+/K^+/2Cl^-$ (NKCC1). Η συγκέντρωση Na^+ στο εσωτερικό των κυττάρων διατηρείται σταθερή χάρη στην Na^+/K^+ ATPάση, που βγάζει Na^+ , ενώ η συγκέντρωση των ιόντων K^+ διατηρείται σταθερή λόγω της εξόδου K^+ από τα μονίμως ανοικτά κανάλια K^+ (leak channels). Na^+ και K^+ , στη συνέχεια, επιστρέφουν στην κυκλοφορία του αίματος. Η συσσώρευση των ιόντων Cl^- μέσα στα εντεροκύτταρα αυξάνει την ηλεκτροχημική τους διαβάθμιση, γεγονός το οποίο επιτρέπει στα ιόντα Cl^- να εξέλθουν από τα κύτταρα μέσω δύο τύπων καναλιών: τα κανάλια **CFTR** και τα Ca^{2+} -εξαρτώμενα κανάλια Cl^- **CACCs** (Calcium Activated Chloride Channels). Η ροή Cl^- προς τον αυλό του εντέρου δημιουργεί την ηλεκτρική βαθμίδωση για μια παράλληλη έξοδο Na^+ , και αυτή η ροή $NaCl$, στη συνέχεια, προσφέρει την ωσμωτική βαθμίδωση για τη μεταφορά του H_2O .

Η έκκριση των υγρών ελέγχεται από μια μεγάλη ποικιλία παραγόντων. Ιδιαίτερης σημασίας είναι η ακετυλοχολίνη και το πεπτίδιο VIP (Vasoactive Intestinal Peptide) που απελευθερώνονται από το εντερικό νευρικό σύστημα. Η **ACh** δρα μέσω του μονοπατιού υποδοχέα $M3/G\alpha_q/PLC/IP_3/IP_3R$ /έξοδο Ca^{2+} από το ΕΔ. Η αύξηση του Ca^{2+} ενεργοποιεί τα Ca^{2+} -ευαίσθητα κανάλια K^+ και Cl^- . Το K^+ βγαίνει από τη βασεοπλευρική μεμβράνη επιστρέφοντας στο πλάσμα και το Cl^- εξέρχεται προς τον εντερικό αυλό. Το **VIP** μέσω του μονοπατιού $VPAC_1/G\alpha_s/AC/cAMP/PKA$ αυξάνει και την είσοδο και την έξοδο Cl^- . Η είσοδος Cl^- επιτυγχάνεται με τη φωσφορυλίωση από την PKA του συμμεταφορέα NKCC1, και η έξοδος Cl^- με τη φωσφορυλίωση της ρυθμιστικής περιοχής του καναλιού CFTR. Ένας άλλος παράγοντας που ελέγχει την έκκριση υγρών είναι η εντερική ορμόνη γουανυλίνη, η οποία, μέσω του υποδοχέα της, μια μεμβρανική γουανυλική κυκλάση GC-C, προκαλεί την αύξηση του cGMP και την ενεργοποίηση της κινάσης PKG-II. Η PKG-II, στη συνέχεια, φωσφορυλιώνει τη ρυθμιστική περιοχή του CFTR οδηγώντας στην έξοδο Cl^- στον αυλό του εντέρου.

Η ACh και το VIP συν-απελευθερώνονται από το πνευμονογαστρικό.



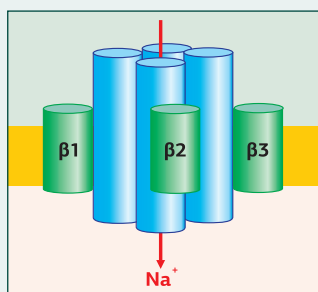
Εικόνα 4.96
Έλεγχος της έκκρισης υγρών από το εντερικό επιθήλιο και ο ρόλος των καναλιών CFTR. Ιόντα Na^+ , K^+ και Cl^- εισέρχονται από το πλάσμα στα εντεροκύτταρα μέσω του συμμεταφορέα NKCC1. Λόγω της αυξημένης βαθμίδωσής τους, τα Na^+ επιστρέφουν στην κυκλοφορία μέσω της Na^+/K^+ ATPάσης, τα K^+ από τα μονίμως ανοικτά κανάλια K^+ , ενώ τα Cl^- ρέουν προς τον αυλό του εντέρου από τα κανάλια CFTR. Αυτή η ροή Cl^- οδηγεί σε παράλληλη έξοδο Na^+ και H_2O . Η έκκριση υγρών ελέγχεται από την ACh, το VIP και τη γουανυλίνη.

7. Σύνοψη του Κεφαλαίου

Τα κύτταρα καταναλώνουν ενέργεια για να δημιουργήσουν μια διαφορά δυναμικού εκατέρωθεν της πλασματικής τους μεμβράνης. Η αλλαγή στο δυναμικό ηρεμίας της μεμβράνης, η οποία προκαλείται από ένα ερέθισμα, συνδέεται με βιοχημικά μονοπάτια που συμμετέχουν στη μεταγωγή σήματος, με τη βοήθεια των καναλιών ιόντων. Υπάρχουν περισσότερα από 300 είδη καναλιών κατιόντων (Na^+ , K^+ , H^+ και Ca^{2+}) και ανιόντων (κυρίως Cl^-), τα οποία παίζουν κυρίαρχο ρόλο στη λειτουργία των κυττάρων.

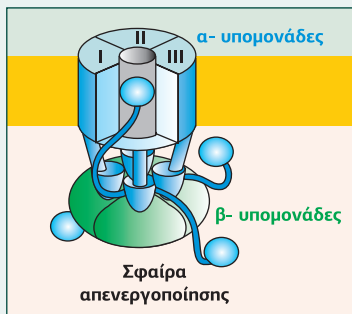
Σύσταση υπομονάδων. Τα κανάλια είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες. Αποτελούνται από κύριες (α -) και συχνά ρυθμιστικές-δευτερεύουσες υπομονάδες (β , γ , δ , ϵ , κ.λπ.). Η κύρια υπομονάδα αποτελείται από διαμεμβρανικές περιοχές με τη μορφή α -έλικας, οι οποίες δημιουργούν τον πόρο του καναλιού.

Τασσο-εξαρτώμενο κανάλι Na^+



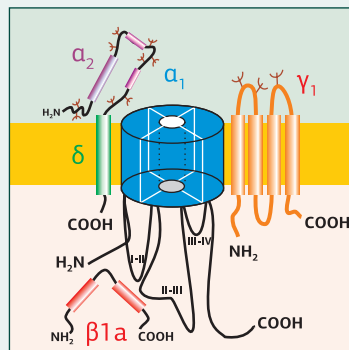
Τα **τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+** σχηματίζονται από μια κεντρική μονομερή α -υπομονάδα και 3-4 συμπληρωματικές β -υπομονάδες ($\beta 1$ -4), διαμεμβρανικές πρωτεΐνες που διαπερνούν μια φορά τη μεμβράνη και περιβάλλουν την κεντρική υπομονάδα. [24]

Τασσο-εξαρτώμενο κανάλι K^+



Τα **τασσο-εξαρτώμενα κανάλια K^+** σχηματίζονται από 4 κεντρικές α -υπομονάδες (I-IV), $\text{K}_v\alpha$ και 4 συμπληρωματικές β -υπομονάδες ($\text{K}_v\beta$), κυτταροπλασματικές πρωτεΐνες που συνδέονται με το COOH -άκρο της κάθε α -υπομονάδας. [76]

Τασσο-εξαρτώμενο κανάλι Ca^{2+}

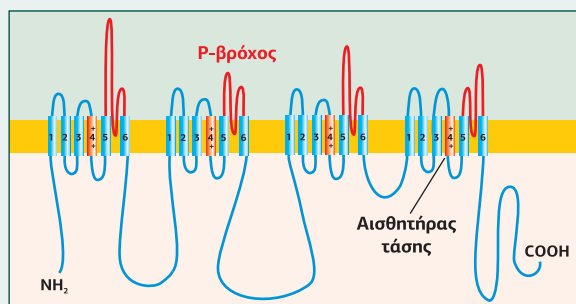


Τα **τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+}** σχηματίζονται από μια κεντρική υπομονάδα $\text{Ca}_v\alpha_1$, την α_1 , που δημιουργεί τον πόρο του καναλιού και 4 συμπληρωματικές (α_2 , β , γ , δ). [37]

Δομικά πρότυπα της κύριας α -υπομονάδας. Η κύρια α -υπομονάδα, που σχηματίζει τον πόρο και τα τοιχώματα του καναλιού, μπορεί να είναι μονομερής, διμερής, τριμερής, τετραμερής ή πενταμερής.

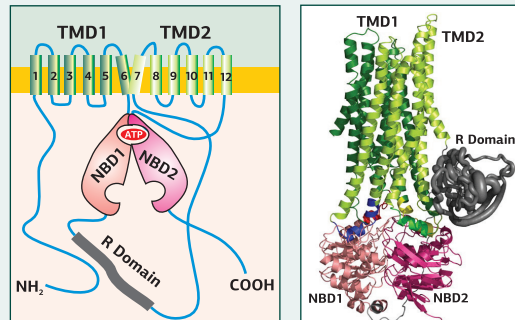
- **Μονομερής πρωτεΐνη** είναι η α -υπομονάδα των τασσο-εξαρτώμενων καναλιών Na^+ και Ca^{2+} και των καναλιών Cl^- CFTR.

Τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και Ca^{2+}



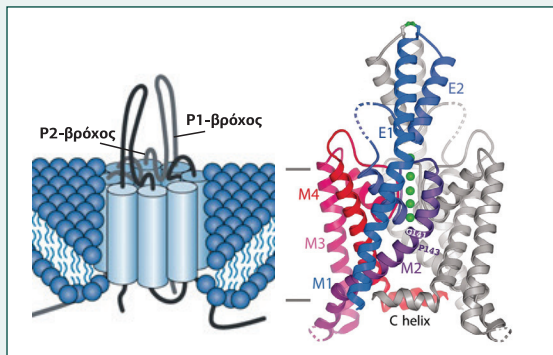
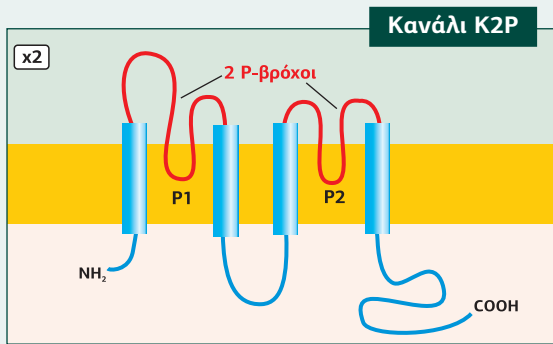
Η μονομερής α -υπομονάδα των Na_v και Ca_v αποτελείται από 4 όμοια μοτίβα 6 διαμεμβρανικών α -ελίκων (**S1-S6**) που δημιουργούν τον πόρο και τα τοιχώματα του καναλιού. Επίσης, περιέχει 4 **P-βρόχους**, που δημιουργούν το φίλτρο εξειδίκευσης, και 4 διαμεμβρανικές περιοχές **S4**, που λειτουργούν ως αισθητήρες τάσης, δηλαδή ελέγχουν το άνοιγμα του καναλιού έπειτα από εκπόλωση. [21][62]

Κανάλι Cl^- CFTR

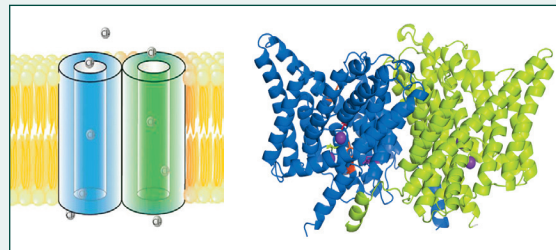
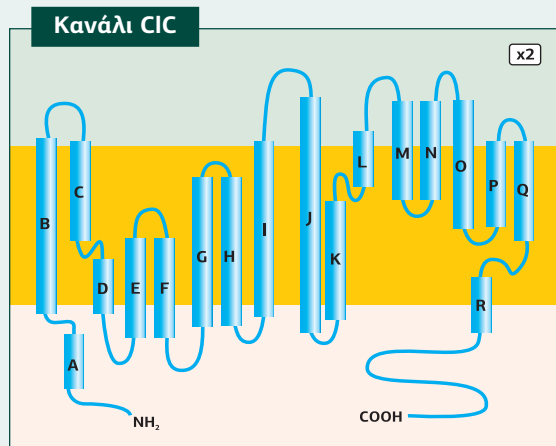


Η μονομερής πρωτεΐνη που δημιουργεί το κανάλι CFTR αποτελείται από δύο όμοια μοτίβα 6 διαμεμβρανικών α -ελίκων (TMD1/TMD2), ενωμένα με ένα μεγάλο ενδοκυτταρικό βρόχο, δύο περιοχές σύνδεσης του ATP (NBD1/NBD2), με δράση ATPάσης η NBD2, και μια ρυθμιστική περιοχή (R Domain). [56]

- Από 2 υπομονάδες συγκροτούνται τα κανάλια K^+ με δύο-P-βρόχους K2P και τα κανάλια Cl^- CIC.

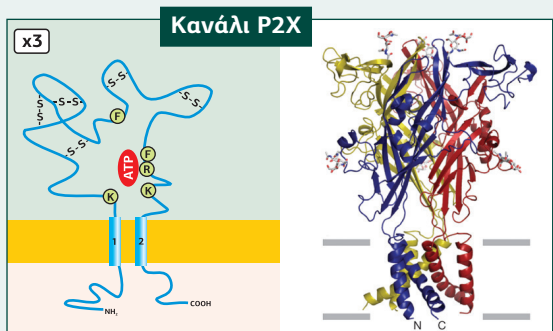


Τα κανάλια K2P συγκροτούνται από δύο υπομονάδες. Η καθεμία υπομονάδα αποτελείται από 4 διαμεμβρανικές α-έλικες (S1-S4) και δύο P-βρόχους (P1, P2), με αποτέλεσμα το κανάλι να περιέχει συνολικά 8 διαμεμβρανικές περιοχές και 4 P-βρόχους, οι οποίοι ανά δύο (P1/P1, P2/P2) δημιουργούν δύο πόρους. [28] [18]

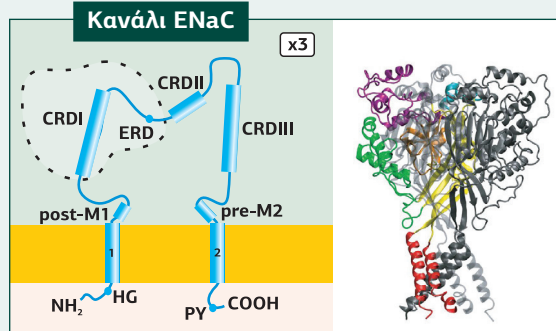


Τα κανάλια CIC συγκροτούνται από δύο υπομονάδες. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από 18 α-έλικες, από τις οποίες οι 17 είναι διαμεμβρανικές και η μία κυτταροπλασματική (η A). Η κάθε υπομονάδα του καναλιού δημιουργεί έναν ξεχωριστό πόρο και συνεπώς τα κανάλια αυτά έχουν δύο πόρους.

- Από 3 υπομονάδες συγκροτούνται τα κανάλια πουρινεργικοί υποδοχείς του ATP (P2X) και τα επιθηλιακά κανάλια Na^+ (ENaC).



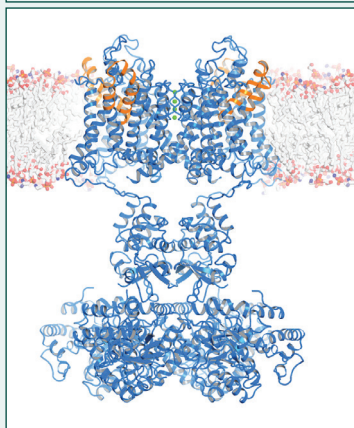
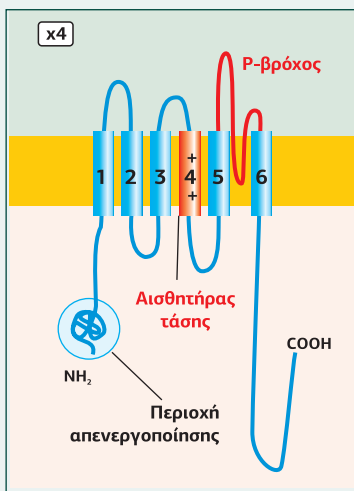
Τα κανάλια-υποδοχείς του ATP P2X συγκροτούνται από τρεις υπομονάδες. Η καθεμία υπομονάδα αποτελείται από 2 διαμεμβρανικές α-έλικες (M1-M2), οι οποίες δημιουργούν τον πόρο και τα τοιχώματα του καναλιού, και έναν μεγάλο εξωκυτταρικό βρόχο ανάμεσά τους, ο οποίος περιέχει τη θέση σύνδεσης του ATP και καλά συντηρημένες Cys που δημιουργούν δεσμούς S-S. Είναι μη εξειδικευμένα κανάλια Na^+/Ca^{2+} (καθώς δεν περιέχουν τον P-βρόχο που λειτουργεί ως φίλτρο εξειδίκευσης) και έχουν 3 θέσεις σύνδεσης για το ATP. [55]



Τα επιθηλιακά κανάλια Na^+ (ENaC) συγκροτούνται από τρεις υπομονάδες. Η καθεμία υπομονάδα αποτελείται από 2 διαμεμβρανικές α-έλικες (M1-M2), οι οποίες δημιουργούν τον πόρο και τα τοιχώματα του καναλιού, και ένα μεγάλο εξωκυτταρικό P-βρόχο ανάμεσά τους, ο οποίος αποτελεί το φίλτρο εξειδίκευσης. Ο εξωκυτταρικός βρόχος περιέχει περιοχές πλούσιες σε Cys CRDs, (Cysteine Rich Domains) που βοηθούν στη ρύθμιση του καναλιού. [27]

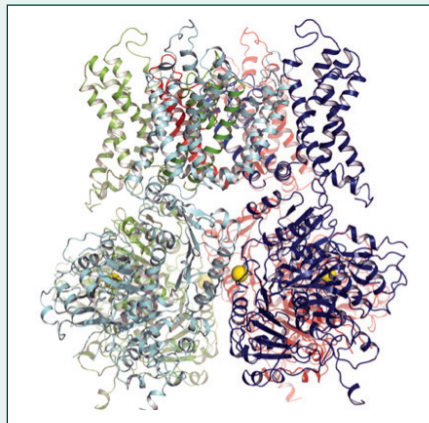
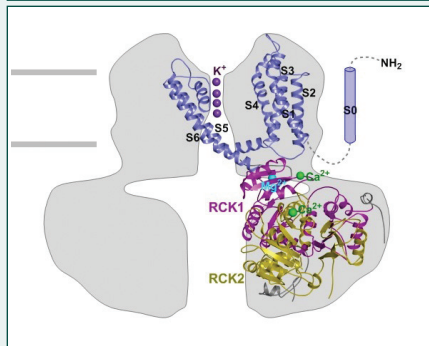
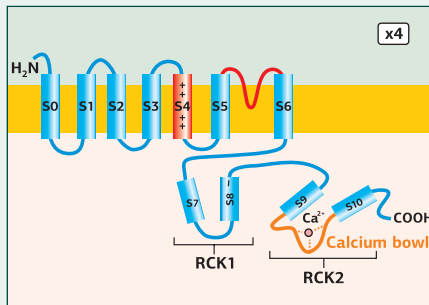
- Από 4 υπομονάδες συγκροτούνται τα κανάλια της υπερ-οικογένειας S5-S6 (τασσο-εξαρτώμενα κανάλια K⁺, κανάλια κυκλικών νουκλεοτιδίων, TRP και κανάλια υποδοχής IP₃ και ρυανοδίνης) και τα κανάλια υποδοχής του γλουταμινικού.

Τασσο-εξαρτώμενα κανάλια K⁺



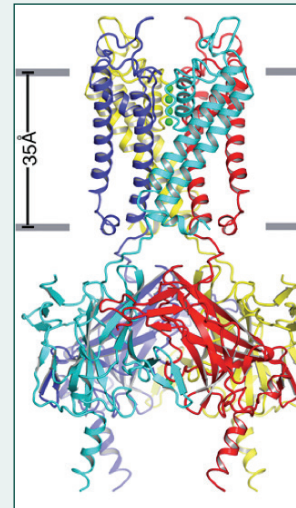
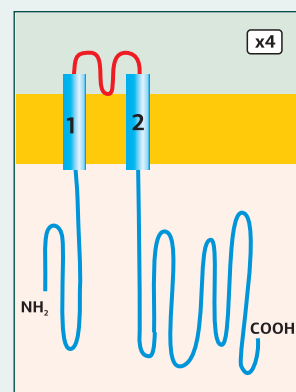
Τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια K⁺ συγκροτούνται από 4 κύριες α-υπομονάδες (καθώς περιέχουν και 4 συμπληρωματικές, ρυθμιστικές, β-υπομονάδες). Η καθεμία α-υπομονάδα αποτελείται από 6 διαμεμβρανικές α-έλικες (S1-S6), οι οποίες δημιουργούν τον πόρο και τα τοιχώματα του καναλιού και περιέχει έναν χαρακτηριστικό P-βρόχο, ο οποίος παίζει τον ρόλο του φίλτρου εξειδίκευσης. Στο NH₂-τελικό άκρο περιέχουν μια σφαίρα απενεργοποίησης, η οποία παρέχει στο κανάλι τη δυνατότητα της γρήγορης απενεργοποίησης. Τα K_v ρυθμίζονται από το δυναμικό λόγω της θετικά φορτισμένης S4 α-έλικας.

Τασσο-εξαρτώμενα κανάλια K⁺ ευαίσθητα στα ιόντα Ca²⁺ (BK_{Ca})



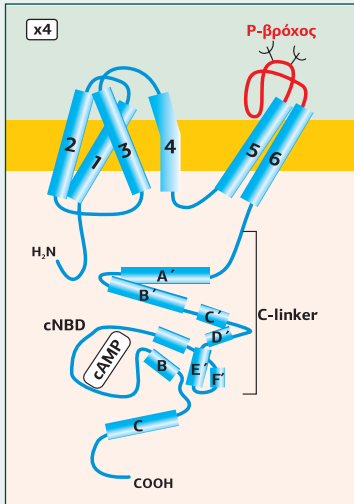
Τα τασσο-εξαρτώμενα κανάλια K⁺, ευαίσθητα στα ιόντα Ca²⁺, συγκροτούνται από 4 α-υπομονάδες. Η καθεμία υπομονάδα αποτελείται από 7 διαμεμβρανικές α-έλικες (S0-S6), οι οποίες δημιουργούν τον πόρο και τα τοιχώματα του καναλιού, από τις οποίες η S4 α-έλικα παίζει τον ρόλο αισθητήρα τάσης. Επίσης, περιέχει έναν χαρακτηριστικό P-βρόχο, ο οποίος παίζει τον ρόλο του φίλτρου εξειδίκευσης, και ένα μεγάλο COOH-τελικό άκρο που περιέχει δύο θέσεις (RCK1, RCK2) υψηλής συγγένειας για τα ιόντα Ca²⁺. [110]

Κανάλια επανορθωτικού ρεύματος K⁺ (Kir)



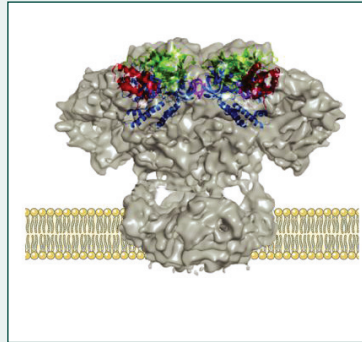
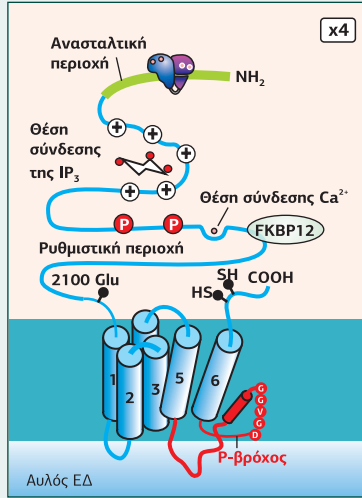
Τα κανάλια επανορθωτικού ρεύματος K⁺ (Kir) συγκροτούνται από 4 υπομονάδες. Η καθεμία υπομονάδα αποτελείται από 2 διαμεμβρανικές α-έλικες (S1-S2), οι οποίες δημιουργούν τον πόρο και τα τοιχώματα του καναλιού, ανάμεσα στις οποίες υπάρχει ο χαρακτηριστικός P-βρόχος, ο οποίος παίζει τον ρόλο του φίλτρου εξειδίκευσης, ενώ η περιοχή S4 απουσιάζει. Τα κανάλια Kir χαρακτηρίζονται από μεγάλα NH₂- και COOH-τελικά άκρα, τα οποία βρίσκονται στο κυτταρόπλασμα. [105]

Κανάλια που ρυθμίζονται από κυκλικά νουκλεοτίδια (CNGC)



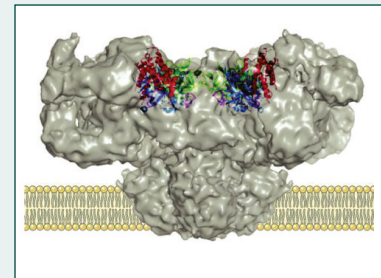
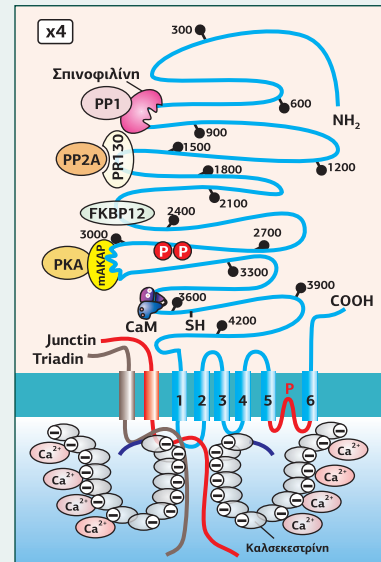
Τα κανάλια που ρυθμίζονται από κυκλικά νουκλεοτίδια (cAMP, cGMP) αποτελούνται από 4 υπομονάδες (δύο A- και δύο B-). Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από 6 διαμεμβρανικές περιοχές (S1-S6) και περιέχει τον P-βρόχο, ο οποίος συμμετέχει στη δημιουργία του στομίου του πόρου. Οι A-υπομονάδες (CNGA1-3) στο COOH-τελικό άκρο περιέχουν τη θέση σύνδεσης του cAMP/cGMP (CNBD), μια περιοχή C-linker, που συνδέει την CNBD με την S6 α-έλικα και παίζει σημαντικό ρόλο στην αλλοστερική ρύθμιση του καναλιού, και μια περιοχή CLZ (Carboxy-Terminal Leucine Zipper). [10][39]

Υποδοχείς $InsP_3$ ($InsP_3R$) στο ΕΔ



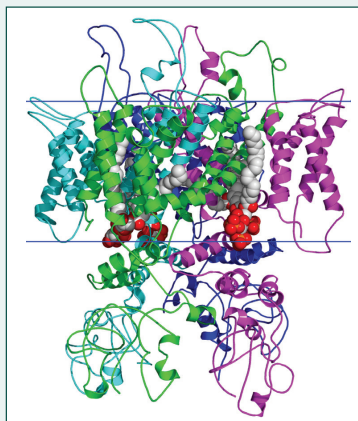
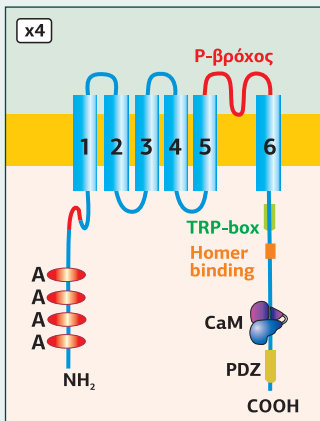
Οι υποδοχείς IP_3 -κανάλια Ca^{2+} αποτελούνται από 4 υπομονάδες. Η κάθε υπομονάδα περιέχει 6 διαμεμβρανικές περιοχές (S1-S6) και τον P-βρόχο που συμμετέχει στη δημιουργία του στομίου του πόρου. Στο μεγάλο NH_2 -τελικό άκρο υπάρχει η θέση σύνδεσης της IP_3 . [91]

Υποδοχείς Ρυανοδίνης (RyR) στο ΣΔ



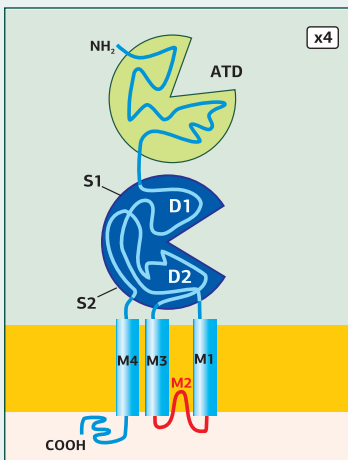
Οι υποδοχείς ρυανοδίνης-κανάλια Ca^{2+} , τα μεγαλύτερα γνωστά κανάλια, αποτελούνται από 4 υπομονάδες. Η κάθε υπομονάδα περιέχει 6 διαμεμβρανικές περιοχές (S1-S6) και τον P-βρόχο, καθώς και ένα τεράστιο NH_2 -τελικό άκρο που παίζει μεγάλο ρυθμιστικό ρόλο. [81]

Κανάλια Παροδικού ρεύματος που ελέγχονται από υποδοχείς, TRP



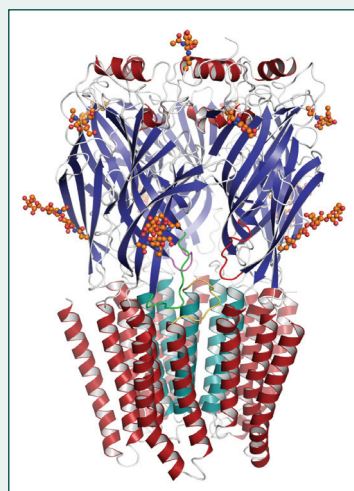
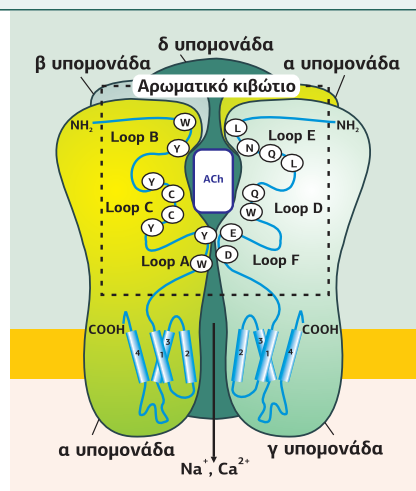
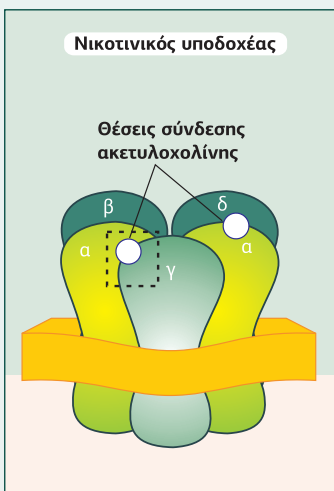
Τα κανάλια TRPs δημιουργούνται από 4 υπομονάδες, καθεμιά από τις οποίες αποτελείται από έξι διαμεμβρανικές α-έλικες και ανάμεσα στις S5-S6 περιοχές έναν P-βρόχο. Ορισμένα κανάλια (TRPC, TRPV, TRPA) έχουν στο NH_2 -τελικό τους άκρο επαναλήψεις αγκυρίνης, ορισμένα (TRPC, TRPM, TRPA) έχουν στο COOH-τελικό άκρο, κοντά στη μεμβράνη, μια περιοχή TRP box, ενώ σε ορισμένους υποτύπους, το COOH-τελικό άκρο περιέχει ενζυμική δραστηριότητα (το TRPM2 έχει δραστηριότητα πυροφωσφατάσης της ADP-ριβόζης, ενώ το TRPM7 έχει δραστηριότητα πρωτεϊνικής κινάσης).

Κανάλια - Υποδοχείς Γλουταμινικού (NMDA, AMPA, καϊνικού)



Τα κανάλια-υποδοχείς γλουταμινικού συγκροτούνται από 4 μεγάλες υπομονάδες. Η κάθε υπομονάδα αποτελείται από 4 διακριτές ημι-αυτόνομες περιοχές: ATD: υπεύθυνη για την αλληλεπίδραση των υπομονάδων, LBD: η θέση σύνδεσης του προσδέτη, TMD: περιέχει 3 διαμεμβρανικές περιοχές (M1, M3, M4) που δημιουργούν τον πόρο και τα τοιχώματα του καναλιού και έναν M2-βρόχο, ο οποίος σχηματίζει το στόμιο του πόρου, και τέλος την περιοχή CTD: το μικρό COOH-τελικό κυτταροπλασματικό άκρο. [80]

- Από **5 υπομονάδες** συγκροτούνται τα κανάλια υποδοχείς της οικογένειας Cys-βρόχου. Για παράδειγμα, οι νικοτινικοί υποδοχείς, οι σεροτονινεργικοί 5HT₃R και οι ιοντοτροπικοί υποδοχείς GABA_A.

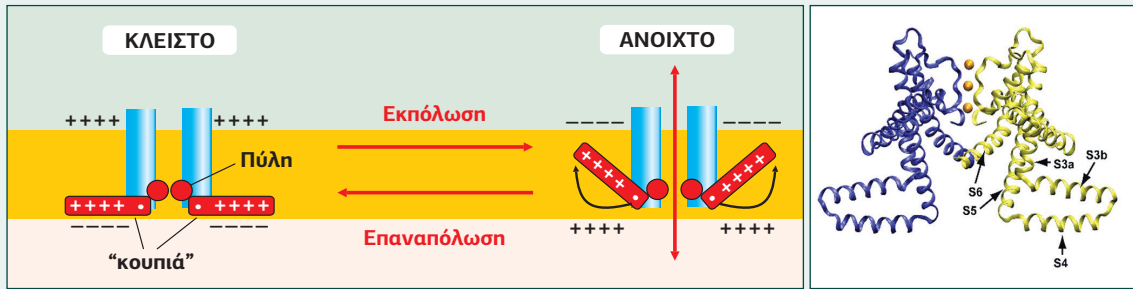


Οι 5 υπομονάδες από τις οποίες αποτελούνται οι υποδοχείς κανάλια της οικογένειας Cys-βρόχου παρουσιάζουν ομοιογενή δομή: είναι γλυκοπρωτεΐνες με 4 διαμεμβρανικές περιοχές (M1-M4), με την M2 περιοχή να σχηματίζει τον πόρο του καναλιού, έναν έξω- και δύο ενδοκυτταρικούς βρόχους που συνδέουν μεταξύ τους τις διαμεμβρανικές περιοχές, ένα μεγάλο NH₂-εξωκυτταρικό άκρο, που περιέχει τον Cys-βρόχο και την περιοχή σύνδεσης του ενδογενούς προσδέτη (αρωματικό κιβώτιο, στην περίπτωση της ACh), καθώς και ένα μικρό COOH-τελικό άκρο.

Μηχανισμοί οι οποίοι ελέγχουν το άνοιγμα του πόρου του καναλιού. Εκτός από τα κανάλια K⁺ 2-P-βρόχων K2P, τα οποία σε κατάσταση ηρεμίας είναι ιδιόσυστατα ανοιχτά (leak/background channels), διατηρώντας το δυναμικό ηρεμίας του κυττάρου κάτω από την ουδό ενεργοποίησης, τα υπόλοιπα είδη καναλιών λειτουργούν ως διακόπτες, των οποίων το άνοιγμα ελέγχεται από συγκεκριμένα σήματα, ηλεκτρικά, χημικά, μηχανικά κ.λπ.

- **Τασεο-εξαρτώμενα κανάλια:** είναι τα κανάλια που περιέχουν μια θετικά φορτισμένη διαμεμβρανική α-έλικα, την S4, η οποία σχηματίζει με ένα τμήμα της έλικας S3, το S3b, ένα είδος φουρκέτας, το οποίο βρίσκεται στη βάση του καναλιού και μετακινείται έπειτα από εκπόλωση της μεμβράνης προς τα πάνω, όπως ένα κουπί, προκαλώντας το άνοιγμα της πύλης.

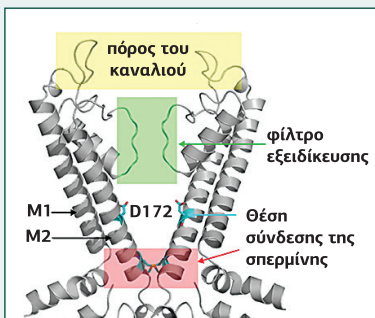
Τα τασεο-εξαρτώμενα κανάλια Na⁺ (**Na_v**) ανοίγουν έπειτα από εκπόλωση του κυττάρου (όταν το δυναμικό υπερβεί την ουδό ενεργοποίησης) και εκφράζονται μόνο στα διεγερσιμα κύτταρα (νευρικά, μυϊκά), όπου είναι υπεύθυνα για την ανοδική φάση του δυναμικού δράσης.



Τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ (K_v) ανοίγουν έπειτα από εκπόλωση του κυττάρου (όταν το δυναμικό της μεμβράνης φτάσει τοπικά περίπου στα +40 mV, δηλαδή στην κορυφή του δυναμικού δράσης), εξέρχονται ιόντα K^+ και το κύτταρο υπερπολώνεται. Εκφράζονται στα διεγερσιμα κύτταρα (νευρικά, μυϊκά) και είναι υπεύθυνα για την καθοδική φάση του δυναμικού δράσης.

Τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια K^+ , τα οποία είναι ταυτόχρονα ευαίσθητα στα ιόντα Ca^{2+} (BK), συνδέουν τη διεγερσιμότητα της μεμβράνης με τη σηματοδότηση του Ca^{2+} . Ανοίγουν έπειτα από εκπόλωση της μεμβράνης και αύξηση της συγκέντρωσης Ca^{2+} σε επίπεδα mM, εξέρχονται ιόντα K^+ και το κύτταρο υπερπολώνεται. Εκφράζονται στο προσυναπτικό άκρο των νευρικών κυττάρων, όπου ελέγχουν τη διάρκεια της απελευθέρωσης του νευροδιαβιβαστή, και στα λεία μυϊκά κύτταρα, όπου ελέγχουν τη διάρκεια σύσπασης των μυϊκών κυττάρων.

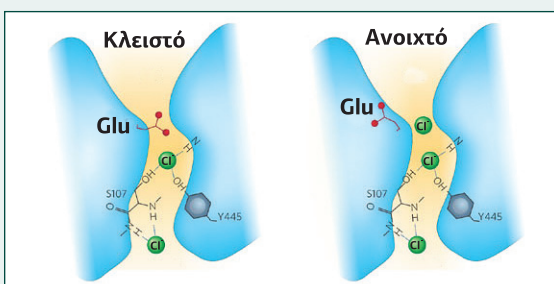
Τα κανάλια επανορθωτικού ρεύματος εισόδου K^+ (K_{ir}) ανοίγουν έπειτα από υπερπόλωση του κυττάρου και οδηγούν σε είσοδο ή έξοδο των ιόντων K^+ , η οποία εξαρτάται από την ηλεκτροχημική βαθμίδωση των ιόντων K^+ . Τα κανάλια K_{ir} παίζουν μεγάλο ρόλο στη δημιουργία και στη μορφή των δυναμικών δράσης: Είναι ανοιχτά όταν το δυναμικό ηρεμίας είναι επαρκώς αρνητικό (βγάζουν K^+ και διατηρούν υπερπολωμένο το κύτταρο) και κλείνουν όταν το δυναμικό υπερβεί την ουδό ενεργοποίησης και το κύτταρο εκπολώνεται. Κατά την καθοδική φάση του δυναμικού δράσης που δημιουργείται από το άνοιγμα των καναλιών K_v , όταν το δυναμικό πέσει κάτω από το δυναμικό ηρεμίας, το κύτταρο υπερπολώνεται και ανοίγουν τα κανάλια K_{ir} , από τα οποία εισέρχονται ιόντα K^+ και το δυναμικό επανέρχεται στην ηρεμία.



Καθώς τα κανάλια K_{ir} στερούνται της διαμεμβρανικής S4 α-έλικας που παίζει τον ρόλο αισθητήρα τάσης στα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια, επηρεάζονται από το δυναμικό με έναν άλλο μηχανισμό: Όταν το δυναμικό της μεμβράνης είναι πάνω από την ουδό ενεργοποίησης και το κύτταρο εκπολώνεται, το κανάλι είναι κλειστό καθώς την κυτταροπλασματική του πύλη μπλοκάρουν ενδογενείς θετικά φορτισμένες πολυαμιίνες (π.χ. σπερμίνη), οι οποίες συνδέονται με υψηλή συγγένεια σε αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα της διαμεμβρανικής περιοχής που δημιουργεί τα τοιχώματα του πόρου (π.χ. στο $K_{ir}2.1$ κύριο ρόλο παίζει το όξινο αμινοξύ ασπαρτικό, D172). Όταν το δυναμικό της μεμβράνης αποκτήσει αρνητικές τιμές (κάτω από την ουδό ενεργοποίησης), η σπερμίνη απομακρύνεται και το κανάλι ανοίγει. [5]

Τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια Ca^{2+} (Ca_v) ανοίγουν έπειτα από εκπόλωση του κυττάρου και εκφράζονται στην πλασματική μεμβράνη διεγερσιμων κυττάρων. Στους νευρώνες, για παράδειγμα, βρίσκονται στις συναπτικές τους απολήξεις, όπου παίζουν κύριο ρόλο στην απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή, και στα μυϊκά κύτταρα, όπου εμπλέκονται στη σύνδεση διέγερσης-σύσπασης.

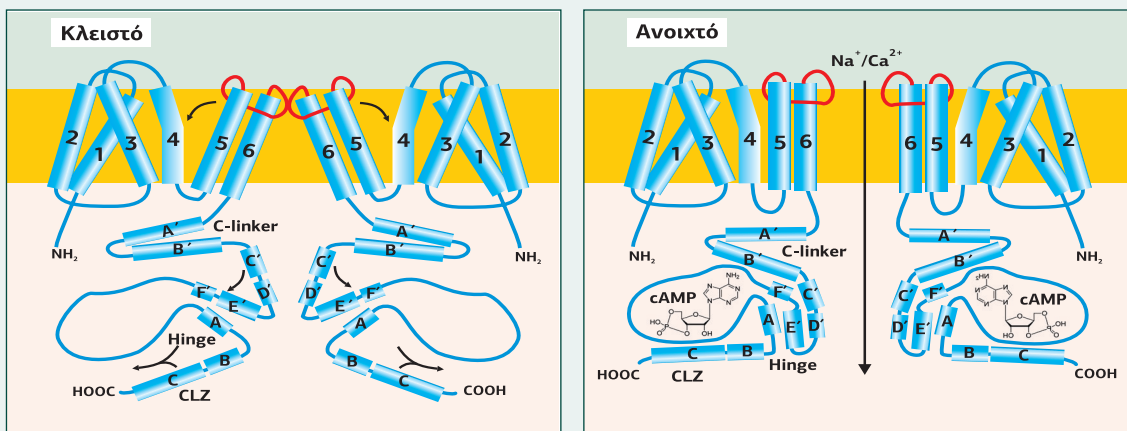
Τα κανάλια **CIC** ανοίγουν, όπως και τα τασηο-εξαρτώμενα κανάλια κατιόντων, έπειτα από εκπόλωση, αλλά καθώς απουσιάζει ο αισθητήρας τάσης S4, χρησιμοποιούν άλλο μηχανισμό. Ο καθένας από τους δύο πόρους του



καναλιού ελέγχεται γρήγορα και ξεχωριστά από ένα καλά συντηρημένο γλουταμινικό (Glu148), του οποίου η αρνητικά φορτισμένη πλευρική αλυσίδα μπλοκάρει την πύλη του καναλιού, όταν η εξωκυτταρική συγκέντρωση Cl^- είναι χαμηλή. Όταν η συγκέντρωση του εξωκυτταρικού Cl^- αυξηθεί, τα ιόντα Cl^- συναγωνίζονται την πλευρική αλυσίδα του γλουταμινικού, συνδέονται στη θέση σύνδεσης Cl^- και το κανάλι ανοίγει. Υπάρχουν διαφορετικοί υπότυποι CIC, καθένας από οποίους εκφράζεται σε διαφορετικό ιστό, παίζοντας διαφορετικό ρόλο.

- **Προσδετο-εξαρτώμενα κανάλια:** είναι τα κανάλια που περιέχουν μια περιοχί σύνδεσης ενός ενδογενούς προσδέτη, η σύνδεση του οποίου προκαλεί το άνοιγμα του καναλιού. Οι προσδέτες μπορεί να είναι είτε ενδοκυτταρικοί 2οι διαβιβαστές (cAMP, cGMP, $InsP_3$) είτε εξωκυτταρικοί νευροδιαβιβαστές (ακετυλοχολίνη, σεροτονίνη, GABA, ATP).

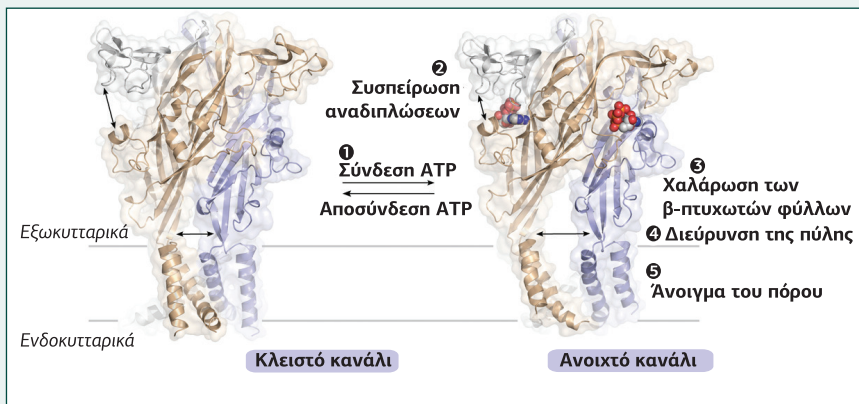
Τα κανάλια που ελέγχονται από κυκλικά νουκλεοτίδια ανοίγουν με τη σύνδεση cAMP/cGMP, ενώ παρουσιάζουν μικρή ευαισθησία στο δυναμικό, καθώς η S4 περιοχή, η οποία κανονικά λειτουργεί ως αισθητήρας τάσης, δεν περιέχει αρκετά θετικά φορτισμένα αμινοξέα (εκτός από το HCN). Η υπερπόλωση της μεμβράνης μετακινεί την περιοχή S4-S3b με κίνηση κουπιού (στο HCN) και ταυτόχρονα η σύνδεση του cAMP/cGMP στην περιοχή CNBD προκαλεί αναδιαμόρφωση των N-τελικών α-ελίκων και των περιοχών CLZ (C-terminal Leicine Zipper Domain) και Hinge (εύκαμπτος σύνδεσμος). Αυτές οι μεταβολές μεταφέρονται μέσω της περιοχής C-linker στις διαμεμβρανικές S5, S6 α-έλικες, ανοίγοντας το κανάλι. [83]



Τα κανάλια Ca^{2+} -υποδοχείς $InsP_3$ βρίσκονται στη μεμβράνη του ΕΔ και ανοίγουν μετά τη σύνδεση 4 μορίων IP_3 στις θήκες σύνδεσης των μεγάλων NH_2 -τελικών άκρων των 4 υπομονάδων. Η σύνδεση IP_3 και Ca^{2+} αποσταθεροποιεί την ανασταλτική αλληλεπίδραση ανάμεσα σε αμινοξέα της ανασταλτικής περιοχής του NH_2 -τελικού άκρου και σε μια αλληλουχία “φύλακα της πύλης” του κοντού $COOH$ -τελικού κυτταροπλασματικού άκρου, επιτρέποντας το άνοιγμα της πύλης (βλ. **Εικόνα 4.40**).

Τα κανάλια Ca^{2+} -υποδοχείς ρυανοδίνης βρίσκονται στη μεμβράνη του ΣΔ και ανοίγουν μετά τη σύνδεση ιόντων Ca^{2+} στο μεγάλο NH_2 -τελικό άκρο. Αν και ο μηχανισμός δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως, έχει προταθεί ότι με τη σύνδεση του Ca^{2+} ο πόρος του καναλιού διαστέλλεται, πιθανόν λόγω της κάμψης των διαμεμβρανικών ελίκων και της μετακίνησης προς τα πάνω και προς τα έξω των βρόχων του NH_2 -τελικού άκρου.

Τα κανάλια-υποδοχείς Cys-βρόχου ανοίγουν μετά τη σύνδεση 2 μορίων νευροδιαβιβαστή (ακετυλοχολίνη, σεροτονίνη, GABA) στο NH_2 -τελικό άκρο (ανάμεσα στις α/γ και α/δ υπομονάδες στον nAChR, και μεταξύ των α/β στον GABA-R), η οποία επάγει τη μετατόπιση των προς τα έξω β-κλώνων και την περιστροφή των προς τα μέσα β-κλώνων του NH_2 -άκρου. Οι αλλαγές αυτές αλλάζουν τον προσανατολισμό των M2 ελίκων που δημιουργούν τα τοιχώματα του πόρου, με αποτέλεσμα την απομάκρυνση των 5 καταλοίπων Leu, τα οποία φράζουν το κέντρο του πόρου, και το άνοιγμα του καναλιού (βλ. **Εικόνα 4.66** και **4.67**).



Τα κανάλια Ca^{2+} -υποδοχείς ATP ανοίγουν με τη σύνδεση 3 εξωκυτταρικών μορίων ATP στη θήκη σύνδεσης των 3 εξωκυτταρικών βρόχων. Ως αποτέλεσμα, οι αναδιπλώσεις των βρόχων συσπειρώνονται και λόγω της αλληλεπίδρασης της ριβόζης και της αδενίνης του ATP με τα υδρόφοβα αμινοξέα L217 και I232 προκαλείται μια ανοδική

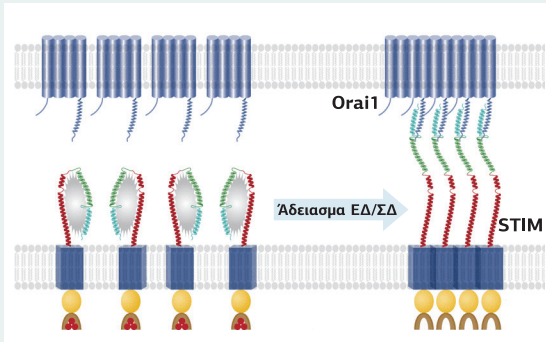
κίνηση της ραχιαίας πλευράς. Η κίνηση αυτή μεταφέρεται στις διαμεμβρανικές έλικες M1/M2 διευρύνοντας τον πόρο κατά ~ 3 Å. Αυτή η διεύρυνση επιτρέπει στα ιόντα να διασχίσουν το κανάλι.

Μια κατηγορία καναλιών Kir είναι τα **κανάλια K^+ K_{ATP}** , των οποίων το άνοιγμα εξαρτάται από την ενδοκυτταρική συγκέντρωση του ATP. Η σύνδεση του ATP στο COOH-τελικό άκρο τους κρατά κλειστό το κανάλι. Όταν το κανάλι είναι κλειστό, το ATP βρίσκεται επίσης συνδεδεμένο στις περιοχές NBD1 και NBD2 της συμπληρωματικής υπομονάδας του καναλιού, SUR. Όταν το ενδοκυτταρικό ATP μειώνεται, η περιοχή NBD2 υδρολύει το ATP και διατηρεί συνδεδεμένο το MgADP. Αυτή η σύνδεση ευνοεί μια αλλαγή διαμόρφωσης της SUR που μεταφέρεται στις υπομονάδες Kir εμποδίζοντας την τονική αναστολή που ασκεί το ATP και οδηγώντας στο άνοιγμα του καναλιού (βλ. **Εικόνα 4.53**).

Τα κανάλια Na^+/Ca^{2+} -υποδοχείς γλουταμινικού. Ο τρόπος ανοίγματος των καναλιών αυτών ποικίλλει ανάλογα με τον υπότυπο: Οι υποδοχείς AMPA ανοίγουν με τη σύνδεση 2 μορίων γλουταμινικού, ενώ στους NMDA-R, καθώς ο πόρος του καναλιού είναι φραγμένος από ένα Mg^{2+} , πρέπει να προηγηθεί η εκπόλωση της μεμβράνης, η οποία απομακρύνει το Mg^{2+} , και κατόπιν αυτής η σύνδεση των 2 γλουταμινικών για να ανοίξει τον πόρο. Η σύνδεση του γλουταμινικού κλείνει σαν όστρακο τους βρόχους S1/S2, η οποία μεταφέρουν την αλλαγή διαμόρφωσης στις διαμεμβρανικές περιοχές M3. Οι M3 απομακρύνονται μεταξύ τους και, καθώς βρίσκονται σε φυσική επαφή με τις περιοχές M2, οδηγούν στη μετακίνηση των M2 και στο άνοιγμα του πόρου (βλ. **Εικόνα 4.81**).

- **Κανάλια που ανοίγουν λόγω φυσικής σύνδεσης με μια άλλη πρωτεΐνη** είναι τα κανάλια Ca^{2+} υποδοχείς ρυανοδίνης RyR1, τα κανάλια Ca^{2+} που ελέγχονται από τα επίπεδα Ca^{2+} στο ΕΔ/ΣΔ (CRAC, Orai) και τα κανάλια K^+ που ελέγχονται από τις Gβγ-υπομονάδες (GIRK).

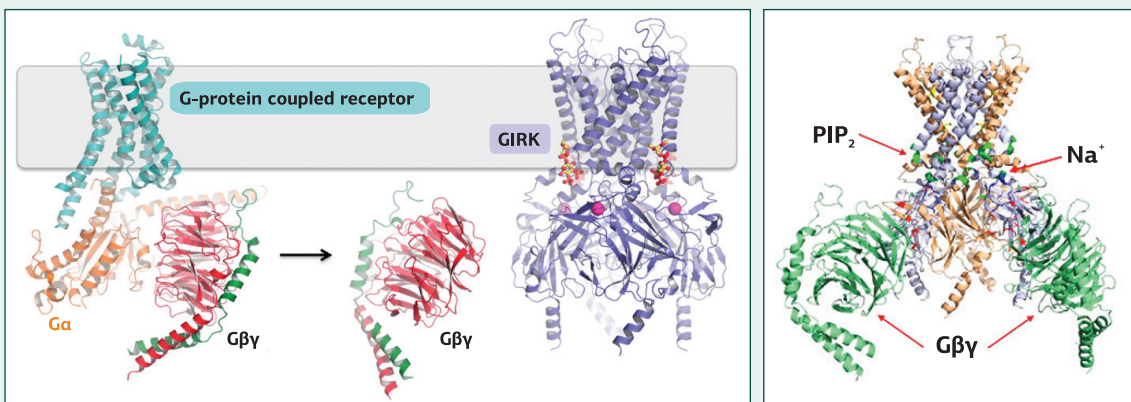
Κανάλια Ca^{2+} -υποδοχείς ρυανοδίνης RyR1. Παρότι το Ca^{2+} είναι ο κύριος προσδέτης που επάγει το άνοιγμα των καναλιών, δεν είναι απαραίτητο σε όλους τους τύπους των υποδοχέων της ρυανοδίνης. Στην περίπτωση του RyR1, ο οποίος εκφράζεται στους σκελετικούς μυς, υπάρχει μια φυσική σύνδεση ανάμεσα στο τασηο-εξαρτώμενο L-τύπου κανάλι Ca^{2+} , $Ca_v1.1$ της πλασματικής μεμβράνης των T-σωληναρίων και του RyR1. Ο ενδοκυτταρικός βρόχος του $Ca_v1.1$ που συνδέει τις υπομονάδες II και III (II-III linker) αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα RyR1. Η αλλαγή του δυναμικού της πλασματικής μεμβράνης προκαλεί αλλαγή διαμόρφωσης στο κανάλι $Ca_v1.1$, η οποία συνεπιφέρει το άνοιγμα του RyR1 χωρίς να απαιτείται η σύνδεση του Ca^{2+} (βλ. **Εικόνα 4.43**).



Τα κανάλια CRAC (π.χ. Orai) ελέγχονται από τα επίπεδα Ca^{2+} μέσα στο ΕΔ/ΣΔ και γι' αυτό ανοίγουν μέσω αλληλεπίδρασης με τις πρωτεΐνες STIM της μεμβράνης του ΕΔ/ΣΔ, οι οποίες ενεργοποιούνται από τη μείωση της συγκέντρωσης του Ca^{2+} μέσα στο ΕΔ/ΣΔ (βλ. **Εικόνα 4.89**).

Κανάλια που ελέγχονται από τις Gβγ υπομονάδες. Το άνοιγμα των καναλιών GIRK (G protein-coupled Inwardly Rectifying K^+ channels), υποκατηγορία των καναλιών Kir (Kir3), είναι υπό τον έλεγχο υποδοχέων

GPCRs. Κατά την ενεργοποίηση του GPCR, η G_{α} -υπομονάδα της πρωτεΐνης $G_{\alpha/\beta}$, αποσυνδέει το GDP και συνδέει το GTP. Αυτό οδηγεί στον αποχωρισμό της G_{α} -GTP από τις Gβγ-υπομονάδες, οι οποίες συνδέονται άμεσα στο κανάλι GIRK και το ανοίγουν. Από το ανοιχτό GIRK εξέρχεται K^+ και το κύτταρο υπερπολώνεται. Το κανάλι κλείνει όταν η G_{α} υδρολύει το GTP σε GDP και είναι ικανή να επανασυνδεθεί με τις Gβγ υπομονάδες. [105]



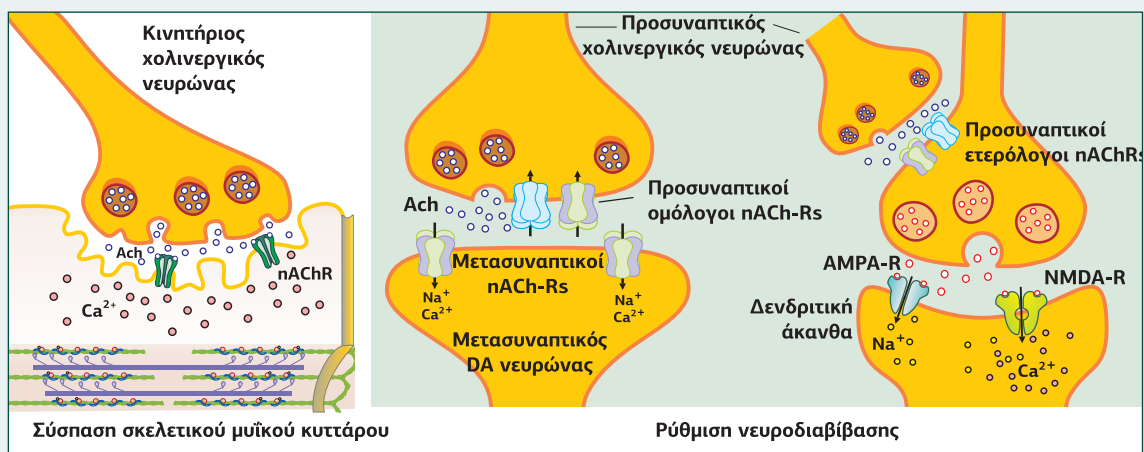
Ο ρόλος των καναλιών στη σηματοδότηση. Τα κανάλια ιόντων έχουν δύο ρόλους στα σηματοδοτικά μονοπάτια: τον ρόλο υποδοχέα ή του τελεστή.

- **Παίζουν τον ρόλο του υποδοχέα** (κανάλια υποδοχείς), αναγνωρίζουν και συνδέουν τον εξωκυτταρικό νευροδιαβιβαστή, ανοίγουν και τα ιόντα που εισέρχονται στο κυτταρόπλασμα ενεργοποιούν ($\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$) ή αναστέλλουν (Cl^-) συγκεκριμένες κυτταρικές δράσεις.

Η σύνδεση ακετυλοχολίνης στον νικοτινικό υποδοχέα οδηγεί στην είσοδο $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$. Ανάλογα με τον ιστό όπου εκφράζονται οι νικοτινικοί υποδοχείς, η είσοδος $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ οδηγεί σε διαφορετικά αποτελέσματα.

Στη νευρομυϊκή σύναψη η είσοδος $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ στο σκελετικό μυϊκό κύτταρο μεταβάλλει το δυναμικό ηρεμίας και, αν αυτό ξεπεράσει την ουδό ενεργοποίησης, ενεργοποιούνται τασσο-εξαρτώμενα κανάλια Na^+ και δημιουργούνται δυναμικά δράσης, τα οποία μεταφέρονται κατά μήκος του σαρκελήματος και των T-σωληναρίων, οδηγώντας σε Ca^{2+} -εξαρτώμενη αύξηση του κυτταροπλασματικού Ca^{2+} , που προκαλεί τη σύσπαση του μύος (βλ. **Εικόνα 4.10**).

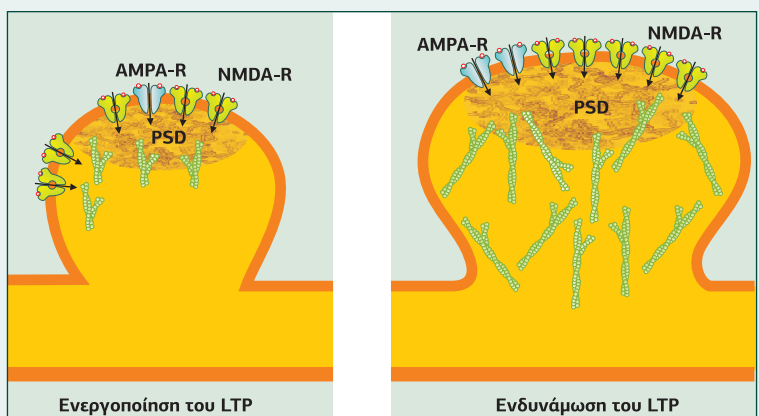
Στο ΚΝΣ οι νικοτινικοί υποδοχείς βρίσκονται κυρίως στο προσυναπτικό άκρο χολινεργικών νευρώνων (προσυναπτικοί ομόλογοι υποδοχείς), αλλά και μη χολινεργικών, όπως ντοπαμινεργικών, γλουταμινεργικών και GABA (προσυναπτικοί ετερόλογοι υποδοχείς), όπου αυξάνοντας τη συγκέντρωση Ca^{2+} σύναψη, αυξάνουν την απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή. Βρίσκονται, επίσης, και μετασυναπτικά, σε σώματα και δενδρίτες, όπου ενεργοποιούν τη διέγερση των νευρώνων. Οι nAChRs στο ΚΝΣ συμμετέχουν σε λειτουργίες, όπως η μνήμη και η μάθηση (μέσω της αύξησης της απελευθέρωσης του γλουταμινικού), η ευχαρίστηση (μέσω της αύξησης της απελευθέρωσης της ντοπαμίνης), το άγχος και ο κεντρικός έλεγχος του πόνου (μέσω της ενεργοποίησης των μετασυναπτικών nAChRs).



Η σύνδεση γλουταμινικού

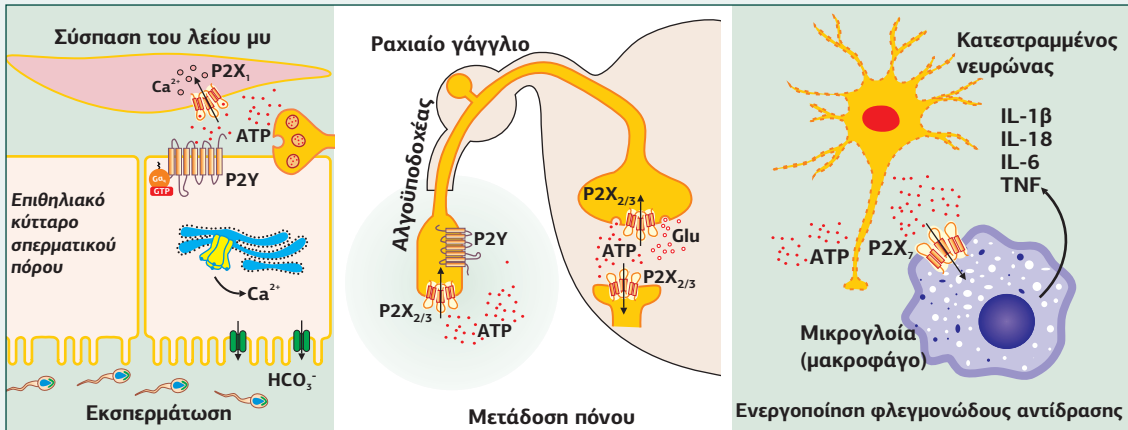
στους υποδοχείς AMPA και NMDA

οδηγεί στην είσοδο Na^+ (μέσω των AMPA) και στην εκπόλωση της μεμβράνης, η οποία προκαλεί το άνοιγμα των υποδοχέων NMDA (οι οποίοι ήταν φραγμένοι από Mg^{2+}). Το Ca^{2+} που εισέρχεται από τους NMDA παίζει το ρόλο του 2ου διαβιβαστή, ενεργοποιώντας κινάσες και μεταγραφικούς παράγοντες, που οδηγούν στην ενεργοποίηση γονιδίων στόχων, με αποτέλεσμα την παραγωγή πρωτεϊνών που συμμετέχουν στη δημιουργία νέων συνάψεων (LTP, μακρόχρονη ενδυνάμωση) και στη μνήμη μακράς διάρκειας.



Η σύνδεση του ATP στους πουρινεργικούς υποδοχείς P2X οδηγεί στην είσοδο ιόντων Ca^{2+} . Ανάλογα με τον ιστό όπου εκφράζονται οι P2X υποδοχείς, η είσοδος Ca^{2+} οδηγεί σε διαφορετικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα, στα λεία μυϊκά κύτταρα του σπερματικού πόρου το Ca^{2+} δρα ως 2ος διαβιβαστής ενεργοποιώντας την MLC κινάση,

η οποία οδηγεί στη σύσπαση του λείου μυ και την απελευθέρωση των σπερματοζωαρίων, στα μακροφάγα οδηγεί στην απελευθέρωση της ιντερλευκίνης-1β και στην ενεργοποίηση της φλεγμονώδους αντίδρασης, ενώ παίζει σημαντικό ρόλο και στη μετάδοση του πόνου.



Η σύνδεση του GABA στους υποδοχείς GABA_{A/C} οδηγεί στην είσοδο Cl⁻. Το Cl⁻ υπερπολώνει τον νευρώνα και αναστέλλει τη δράση του. Γι' αυτό και η ενεργοποίηση αυτών των υποδοχέων από τα βαρβιτουρικά έχει ηρεμιστικά/κατασταλτικά αποτελέσματα στον οργανισμό.

- **Παίζουν τον ρόλο του τελεστή,** συμμετέχοντας σε κάποιο στάδιο του σηματοδοτικού μονοπατιού. Αναφέρουμε ενδεικτικά ορισμένους χαρακτηριστικούς ρόλους.

Τα ταεσο-εξαρτώμενα κανάλια Na⁺ και K⁺, καθώς είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία και την απόσβεση των δυναμικών δράσης, μεταφέρουν το μήνυμα από το σώμα του νευρώνα στη συναπτική απόληξη.

Τα ταεσο-εξαρτώμενα κανάλια Ca²⁺, ανάλογα με τον ιστό όπου εκφράζονται, παίζουν και διαφορετικό ρόλο. Για παράδειγμα, τα VOCCs στο ΚΝΣ βρίσκονται στο προσυναπτικό άκρο του νευρώνα, όπου η είσοδος Ca²⁺, η οποία ενεργοποιείται από την έλευση των δυναμικών δράσης, έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση του νευροδιαβιβαστή, ενώ τα VOCCs στα καρδιακά μυϊκά κύτταρα έχουν ως ρόλο τη σύσπαση του καρδιομυοκυττάρου.

Τα κανάλια που ελέγχονται από κυκλικά νουκλεοτίδια αποτελούν στόχο του 2ου διαβιβαστή (cAMP, cGMP) και η είσοδος Na⁺/Ca²⁺ στο κύτταρο είναι υπεύθυνη για την εκπόλωση είτε του σφρηρτικού είτε του φωτοευαίσθητου κυττάρου και, κατά συνέπεια, για τη μετάδοση του σφρηρτικού ή του οπτικού ερεθίσματος.

Οι υποδοχείς IP₃ και ρυανοδίνης βρίσκονται στη μεμβράνη του ΕΔ/ΣΔ και αποτελούν στόχο του 2ου διαβιβαστή, IP₃ και Ca²⁺, αντίστοιχα. Η έξοδος του Ca²⁺ από το ΕΔ/ΣΔ στο κυτταρόπλασμα έχει διαφορετικά αποτελέσματα ανάλογα με το είδος του κυττάρου.

Τα κανάλια TRP, με ισχυρή προτίμηση στα ιόντα Ca²⁺, ανάλογα με το υπότυπό τους έχουν διαφορετικό ρόλο. Για παράδειγμα, τα κανάλια TRPC2 εκφράζονται στα σπερματοζωάρια, όπου επάγουν την ακροσωμική αντίδραση, και στο σφρηρτικό όργανο (vomeronasal organ) πολλών σπονδυλωτών, όπου ενεργοποιούνται έμμεσα από φερομόνες. Τα κανάλια TRPV5 και TRPV6 βρίσκονται στα επιθηλιακά κύτταρα του εντέρου και καθώς είναι μονίμως ανοικτά οδηγούν στην είσοδο του Ca²⁺ (που προέρχεται από τις τροφές) από τον αυλό του εντέρου στα επιθηλιακά κύτταρα. Τα κανάλια TRPV, TRPA και TRPM βρίσκονται στις απολήξεις των αισθητήριων νευρώνων του δέρματος και της γλώσσας, όπου παίζουν τον ρόλο θερμοϋποδοχέων, οι οποίοι αποκρίνονται σε θερμές ή ψυχρές θερμοκρασίες. Τα κανάλια TRP ενεργοποιούνται, επίσης, από ουσίες που απελευθερώνονται από ιστό που έχει υποστεί κάκωση και προκαλείται το χαρακτηριστικό αίσθημα καψίματος κατά τη φλεγμονώδη αντίδραση.

Βιβλιογραφία

1. Albuquerque EX, Pereira EFR, Alkondon M, Rogers SW, Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function, *Physiol Rev* **89**: 73-120 (2009).
2. Arias HR, Localization of agonist and competitive antagonist binding sites on nicotinic acetylcholine receptors, *Neurochem Int* **36**: 595-645 (2000).
3. Arias HR, Topology of ligand binding sites on the nicotinic acetylcholine receptor, *Brain Res Rev* **25**: 133-191 (1997).
4. Barnard EA, The transmitter-gated channels: a range of receptor types and structures, *Trends Pharmacol Sci* **17**: 305-308 (1996).
5. Baronas VA, Kurata HT, Inward rectifiers and their regulation by endogenous polyamines, *Front Physiol* **5**: 325 (2014).
6. Barros F, Domínguez P, de la Peña P, Cytoplasmic domains and voltage-dependent potassium channel gating, *Front Pharmacol* **3**: 49 (2012).
7. Benarroch EE, NMDA receptors. Recent insights and clinical correlations, *Neurology* **76**: 1750-57 (2011).
8. Bennet MVL, Electric organs in Fish, *Physiology* **5**: 347-491 (1971).
9. Bhalla V, Hallows K, Mechanisms of ENaC regulation and clinical implications, *J Am Soc Nephrol* **19**: 1845-54 (2008).
10. Biel M, Cyclic Nucleotide-regulated cation channels, *J Biol Chem* **284**: 9017-21 (2009).
11. Biel M, Sautter A, Ludwig A, Hoffmann F, Zong X, Cyclic nucleotide-gated channels - mediators of NO: cGMP-regulated processes, *Naunyn-Schiedeberg's Arch Pharmacol* **358**: 140-144 (1998).
12. Biel M, Wahl-Schott C, Michalakis S, Zong X, Hyperpolarization-activated cation channels: from genes to function, *Physiol Rev* **89**: 847-885 (2009).
13. Bosanac I, Michikawa T, Mikoshiba K, Ikura M, Structural insights into the regulatory mechanisms of IP₃ receptors, *Biochim Biophys Acta* **1742**: 89-102 (2004).
14. Bradley J, Reiser J, Frings S, Regulation of cyclic nucleotide-gated channels, *Curr Opin Neurobiol* **15**: 343-349 (2005).
15. Brandon NJ, Moss SJ, Receptor cross-talk: ligand-gated ion channels start to communicate, *Sci STKE* **2000**: pe1 (2000).
16. Brauchi S, Orta G, Mascayano C, Salazar M, Raddatz N, Urbina H, Latorre R, Dissection of the components for PIP₂ activation and thermosensation in TRP channels, *Proc Natl Acad Sci (USA)* **104**: 10246-51 (2007).
17. Breitwieser GE, GIRK channels: hierarchy of control. Focus on "PKC- δ sensitizes Kir3.1/3.2 channels to changes in membrane phospholipid levels after M3 receptor activation in HEK-293 cells", *Am J Physiol Cell Physiol* **289**: C509-C511 (2005).
18. Brohawn SG, del Mármol J, MacKinnon R, Crystal structure of the human K2P TRAAK, a lipid- and mechano-sensitive K⁺ ion channel, *Science* **335**: 436-41 (2012).
19. Burke MA, Mutharasan RK, Ardehali H, The sulfonylurea receptor, an atypical ATP-binding cassette protein, and its regulation of the K_{ATP} channel, *Circ Res* **102**: 164-176 (2008).
20. Cascio M, Structure and function of the glycine receptor and related nicotinic receptors, *J Biol Chem* **279**: 19383-86 (2004).
21. Catterall WA, Structural biology: A 3D view of sodium channels, *Nature* **409**: 988-991 (2001).
22. Catterall WA, Structure and function of voltage-gated ion channels, *Ann Rev Biochem* **64**: 493-531 (1995).
23. Changeux J-P, Devillers-Thiéry A, Chemouilli P, Acetylcholine receptor: an allosteric protein, *Science* **225**: 1335-45 (1984).
24. Chockalingam P, Wilde A, The multifaceted cardiac sodium channel and its

- clinical implications, *Heart* **98**: 1318-24 (2012).
25. Colquhoun D, Sivilotti L, Function and structure in glycine receptors and some of their relatives, *Trends Neurosci* **27**: 327-344 (2004).
 26. Connolly CN, Wafford KA, The Cys-loop superfamily of ligand-gated ion channels: the impact of receptor structure and function, *Biochem Soc Trans* **32**: 529-533 (2004).
 27. Eastwood AL, Goodman MB, Insight into DEG/ENaC channel gating from genetics and structure, *Physiology* **27**: 282-290 (2012).
 28. Enyedi P, Czirják G, Molecular background of leak K⁺ currents: Two-Pore Domain potassium channels, *Physiol Rev* **90**: 559-605 (2010).
 29. Enz R, Cutting GR, Molecular composition of GABA_C receptors, *Vision Res* **38**: 1431-41 (1998).
 30. Evans JP, Florman HM, The state of the union: the cell biology of fertilization, *Nat Cell Biol* **4 Suppl**: S57-S63 (2002).
 31. Fahlke C, Fischer M, Physiology and pathophysiology of ClC-K/barttin channels, *Front Physiol* **1**: 155 (2010).
 32. Feske S, Calcium signalling in lymphocyte activation and disease, *Nat Rev Immunol* **7**: 690-702 (2007).
 33. Feske S, Skolnik EY, Prakriya M, Ion channels and transporters in lymphocyte function and immunity, *Nat Rev Immunol* **12**: 532-47 (2012).
 34. Finer-Moore J, Stroud RM, Amphipathic analysis and possible formation of the ion channel in an acetylcholine receptor, *Proc Natl Acad Sci (USA)* **81**: 155-159 (1984).
 35. Galzi J-L, Changeux J-P, Neuronal nicotinic receptors: Molecular organization and regulations, *Neuropharmacology* **34**: 563-582 (1995).
 36. Grenningloh G, Rienitz A, Schmitt B, Methfessel C, Zensen M, Beyreuther K, Gundelfinger ED, Betz H, The strychnine-binding subunit of the glycine receptor shows homology with nicotinic acetylcholine receptors, *Nature* **328**: 215-220 (1987).
 37. Gurkoff G, Shahlaie K, Lyeth B, Berman R, Voltage-gated calcium channel antagonists and traumatic brain injury, *Pharmaceuticals* **6**: 788-812 (2013).
 38. Haefely WE, The GABA_A-benzodiazepine receptor: biology and pharmacology, *Handbook of Anxiety*, eds G.D. Burrows, M. Roth and R. Noyes, Elsevier Science Publishers, pp.165-188 (1990).
 39. Haitin Y, Shuart NG, Camp SS, Black KD, Zagotta WN, Molecular mechanism for 3:1 subunit stoichiometry of rod cyclic nucleotide-gated ion channels, *Nat Commun* **2**: 457 (2011).
 40. Hansen KB, Traynelis SF, Glutamate receptors: Mechanistic twists and turns, *Nat Chem Biol* **10**: 698-699 (2014).
 41. Hattori M, Gouaux E, Molecular mechanism of ATP binding and ion channel activation in P2X receptors, *Nature* **485**: 207-212 (2012).
 42. Hendrickson LM, Guildford MJ, Tapper AR, Neuronal nicotinic acetylcholine receptors: common molecular substrates of nicotine and alcohol dependence, *Front Psychiatry* **4**: 29 (2013).
 43. Hibino H, Inanobe A, Furutani K, Murakami S, Findlay I, Kurachi Y, Inwardly rectifying potassium channels: Their structure, function, and physiological roles, *Physiol Rev* **90**: 291-366 (2010).
 44. Hideyama T, Kwak S, When does ALS start? ADAR2-GluA2 hypothesis for the etiology of sporadic ALS, *Front Mol Neurosci* **4**: 33 (2011).
 45. Hoenderop JGJ, Bindels RJM, Calcitropic and magnesiotropic TRP channels, *Physiology* **23**: 32-40 (2008).
 46. Hogg RC, Buisson B, Bertrand D, Allosteric modulation of ligand-gated channels, *Biochem Pharmacol* **70**: 1267-76 (2005).
 47. Hou S, Heinemann S, Hoshi T, Modulation of BK_{Ca} channel gating by endogenous signaling molecules, *Physiology* **24**: 26-35 (2006).

48. Jacob TC, Moss SJ, Jurd R, GABA_A receptor trafficking and its role in the dynamic modulation of neuronal inhibition, *Nat Rev Neurosci* **9**: 331-343 (2008).
49. Jentsch TJ, Chloride channels are different, *Nature* **415**: 276-277 (2002).
50. Jentsch TJ, Maritzen T, Zdebik AA, Chloride channel diseases resulting from impaired transepithelial transport or vesicular function, *J Clin Invest* **115**: 2039-46 (2005).
51. Jones CK, Byun N, Bubser M, Muscarinic and nicotinic acetylcholine receptor agonists and allosteric modulators for the treatment of schizophrenia, *Neuropsychopharmacol Rev* **37**: 16-42 (2012).
52. Karpen JW, Ruiz M, Ion channels: does each subunit do something on its own, *Trends Biochem Sci* **27**: 402-9 (2002).
53. Kashiwagi K, Masuko T, Nguyen CD, Kuno T, Tanaka I, Igarashi K, Williams K, Channel blockers acting at N-Methyl-D-aspartate receptors: Differential effects of mutations in the vestibule and ion channel pore, *Mol Pharmacol* **61**: 533-545 (2002).
54. Kaupp UB, Seifert R, Cyclic nucleotide-gated ion channels, *Physiol Rev* **82**: 769-824 (2002).
55. Kawate T, Michel JC, Birdsong WT, Gouaux E, Crystal structure of the ATP-gated P2X₄ ion channel in the closed state, *Nature* **460**: 592-598 (2009).
56. Kim SJ, Skach WR, Mechanisms of CFTR folding at the endoplasmic reticulum, *Front Pharmacol* **3**: 201 (2012).
57. Koslov DS, Andersson K-E, Physiological and pharmacological aspects of the vas deferens - an update, *Front Pharmacol* **4**: 1-11 (2013).
58. Lehmann-Horn F, Jurkat-Rott K, Voltage-Gated Ion Channels and Hereditary Disease, *Physiol Rev* **79**: 1317-72 (1999).
59. Leite JF, Cascio M, Structure of ligand-gated ion channels: critical assessment of biochemical data supports novel topology, *Mol Cell Neurosci* **17**: 777-792 (2001).
60. Lester H, Dibas M, Dahan D, Leite JF, Dougherty DA, Cys-loop receptors: New twists and turns, *Trends Neurosci* **27**: 329-336 (2004).
61. Liao Y, Plummer NW, George MD, Abramowitz J, Zhu MX, Birnbaumer L, A role for Orai in TRPC-mediated Ca²⁺ entry suggests that a TRPC: Orai complex may mediate store and receptor operated Ca²⁺ entry, *Proc Natl Acad Sci (USA)* **106**: 3202-6 (2009).
62. Liebeskind BJ, Evolution of sodium channels predates the origin of nervous systems in animals *Proc Natl Acad Sci (USA)* **108**: 9154-59 (2011).
63. Lipton SA, Choi YB, Takahashi H, Zhang D, Li W, Godzik A, Bankston LA, Cysteine regulation of protein function – as exemplified by NMDA-receptor modulation, *Trends Neurosci* **25**: 474-480 (2002).
64. Lodish H, Berk A, Zipursky L, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J, *Molecular Cell Biology*, W. H. Freeman, 4th edition (1999).
65. Lynch JW, Molecular structure and function of the glycine receptor chloride channel, *Physiol Rev* **84**: 1051-95. (2004).
66. Madden DR, The structure and function of glutamate receptor ion channels, *Nat Rev Neurosci* **3**: 91-101 (2002).
67. Marks F, Klingmüller U, Müller-Decker K, *Cellular Signal Processing*, Garland Science (2008).
68. Mast TG, Brann JH, Fadool DA, The TRPC2 channel forms protein-protein interactions with Homer and RTP in the rat vomeronasal organ, *BMC Neurosci* **11**: 1-16 (2010).
69. Millar ID, Bruce JIE, Brown PD, Ion channel diversity, channel expression and function in the choroid plexuses, *Cerebrospinal Fluid Res* **4**: 8 (2007).
70. Miller AN, Long SB, Crystal structure of the human two-pore domain potassium channel K2P1, *Science* **335**: 432-6 (2012).
71. Miller C, CIC chloride channels viewed through a transporter lens, *Nature* **440**:

- 484-489 (2006).
72. Minke B, Cook B, TRP Channel Proteins and Signal Transduction, *Physiol Rev* **82**: 429-472 (2002).
 73. Miyazawa A, Fujiyoshi Y, Unwin N, Structure and gating mechanism of the acetylcholine receptor pore, *Nature* **423**: 949-955 (2003).
 74. Mody I, Pearce R, Diversity of inhibitory neurotransmission through GABA_A receptors, *Trends Neurosci* **27**: 569-575 (2004).
 75. Montal MO, Iwamoto T, Tomich JM, Montal M, Desing, synthesis and functional characterization of a pentameric channel protein that mimics the presumed pore structure of the nicotinic cholinergic receptor, *FEBS Lett* **18**: 275-277 (1993).
 76. Moran MM, McAlexander MA, Bíró T, Szallasi A, Transient receptor potential channels as therapeutic targets, *Nat Rev Drug Discov* **10**: 601-620 (2011).
 77. Morin TJ, Kobertz WR, Tethering chemistry and K⁺ channels, *J Biol Chem* **283**: 25105-9 (2008).
 78. Noda M, Takahashi H, Tanabe T, Toyosato M, Kikuyotani S, Furutani Y, Hirose T, Takashima H, Inayama S, Miyata T, Numa S, Structural homology of *Torpedo californica* acetylcholine receptor subunits, *Nature* **302**: 528-531 (1983).
 79. Novak I, Purinergic receptors in the endocrine and exocrine pancreas, *Purinergic Signal* **4**: 237-253 (2008).
 80. Price M, Jelesko J, Okumoto S, Glutamate receptor homologs in plants: functions and evolutionary origins, *Front Plant Sci* **3**: 235 (2012).
 81. Priori SG, Napolitano C, Cardiac and skeletal muscle disorders caused by mutations in the intracellular Ca²⁺ release channels, *J Clin Invest* **115**: 2033-38 (2005).
 82. Reeves DC, Lummis SC, The molecular basis of the structure and function of the 5-HT₃ receptor: a model ligand-gated ion channel, *Mol Membr Biol* **19**: 11-26 (2002).
 83. Rehmann H, Wittinghofer A, Bos JL, Capturing cyclic nucleotides in action: snapshots from crystallographic studies, *Nat Rev Mol Cell Biol* **8**: 63-73 (2007).
 84. Schirmer L, Srivastava R, Kalluri SR, Böttinger S, Herwerth M, Carassiti D, Srivastava B, Gempt J, Schlegel J, Kuhlmann T, Korn T, Reynolds R, Hemmer B, Differential loss of Kir4.1 immunoreactivity in multiple sclerosis lesions, *Ann Neurol* **75**: 810-28 (2014).
 85. Schofield PR, Darlison MG, Fujita N, Burt DR, Stephenson FA, Rodriguez H, Rhee LM, Ramachandran J, Reale V, Glencorse TA, et al, Sequence and functional expression of the GABA_A receptor shows a ligand-gated receptor superfamily, *Nature* **328**: 221-227 (1987).
 86. Semyanov A, Walker M, Kullman D, Silver R, Tonically active GABA_A receptors: modulating gain and maintaining the tone, *Trends Neurosci* **27**: 262-269 (2004).
 87. Serohijos AWR, Phenylalanine-508 mediates a cytoplasmic-membrane domain contact in the CFTR 3D structure crucial to assembly and channel function, *Proc Natl Acad Sci (USA)* **105**: 3256-61 (2008).
 88. Shim AH, Tirado-Lee L, Prakriya M, Structural and functional mechanisms of CRAC channel regulation, *J Mol Biol* **427**: 77-93 (2015).
 89. Smrt RD, Zhao X, Epigenetic regulation of neuronal dendrite and dendritic spine development, *Front Biol (Beijing)* **5**: 304-323 (2010).
 90. Soboloff J, Madesh M, Gill DL, Sensing cellular stress through STIM proteins, *Nat Chem Biol* **7**: 488-492 (2011).
 91. Stathopoulos PB, Seo M, Enomoto M, Amador F, Ishiyama N, Ikura M, Themes and variations in ER/SR calcium release channels: Structure and function, *Physiology* **27**: 331-342 (2012).
 92. Stevens M, Peigneur S, Tytgat J, Neurotoxins and their binding areas on

- voltage-gated sodium channels, *Front Pharmacol* **2**: 1-13 (2011).
93. Taly A, Corringer P-J, Guedin D, Lestage P, Changeux J-P, Nicotinic receptors: allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system, *Nat Rev Drug Discov* **8**: 733-750 (2009).
 94. Taylor C, da Fonseca C, Morris E, IP₃ receptors: The search for structure, *Trends Biochem Sci* **29**: 210-219 (2004).
 95. Tieleman DP, Computer simulations of transport through membranes: passive diffusion, pores, channels and transporters, *Clin Exp Pharmacol Physiol* **33**: 893-903 (2006).
 96. Traynelis SF, Wollmuth LP, McBain CJ, Menniti FS, Vance KM, Ogden KK, Hansen KB, Yuan H, Myers SJ, Dingledine R, Glutamate receptor ion channels: Structure, regulation and function, *Pharmacol Rev* **62**: 405-496 (2010).
 97. Trevisani M, Siemens J, Materazzi S, Bautista DM, Nassini R, Campi B, Imamachi N, Andrè E, Patacchini R, Cottrell GS, Gatti R, Basbaum AI, Bunnett NW, Julius D, Geppetti P, Hydroxynonenal, an endogenous aldehyde, causes pain and neurogenic inflammation through activation of the irritant receptor TRPA1, *Proc Natl Acad Sci (USA)* **104**: 13519-24 (2007).
 98. Trudeau M, Zagotta W, Calcium/calmodulin modulation of olfactory and rod cyclic nucleotide-gated ion channels, *J Biol Chem* **278**: 18705-08 (2003).
 99. Unwin N, Acetylcholine receptor channel imaged in the open state, *Nature* **373**: 37-43 (1995).
 100. Venkatachalam K, Montell C, TRP channels, *Annu Rev Biochem* **76**: 387-417 (2007).
 101. Verrall S, Hall ZW, The N-terminal domains of acetylcholine receptor subunits contain recognition signals for the initial steps of receptor assembly, *Cell* **68**: 324-20 (1992).
 102. Vriens J, Nilius B, Voets T, Peripheral thermosensation in mammals, *Nat Rev Neurosci* **15**: 573-589 (2014).
 103. Wehrens XA, Marks AR, Altered function and regulation of cardiac ryanodine receptors in cardiac disease, *Trends Biochem Sci* **28**: 671-678 (2003).
 104. Weiss N, Ivanova E, Does the voltage-gated calcium channel $\alpha_{2\delta-1}$ subunit play a dual function in skeletal muscle? *J Physiol* **586**: 2035-37 (2008).
 105. Whorton MR, MacKinnon R, Crystal structure of the mammalian GIRK2 K⁺ channel and gating regulation by G proteins, PIP₂ and sodium, *Cell* **147**: 199-208 (2011).
 106. Wollmuth L, Sobolevsky A, Structure and gating of the glutamate receptor ion channel, *Trends Neurosci* **27**: 321-328 (2004).
 107. Wulff H, Castle NA, Pardo LA, Voltage-gated potassium channels as therapeutic targets, *Nat Rev Drug Discov* **8**: 982-1001 (2009).
 108. Yoo S, Lim JY, Hwang SW, Sensory TRP Channel interactions with endogenous lipids and their biological outcomes, *Molecules* **19**: 4708-44 (2014).
 109. Yu FH, Yarov-Yarovoy V, Gutman GA, Catterall WA, Overview of molecular relationships in the voltage-gated ion channel superfamily, *Pharmacol Rev* **57**: 387-395 (2005).
 110. Yuan P, Leonetti MD, Hsiung Y, MacKinnon R, Open structure of the Ca²⁺ gating ring in the high-conductance Ca²⁺-activated K⁺ channel, *Nature* **481**: 94-7 (2011).
 111. Zelman AK, Dawe A, Gehring C, Berkowitz GA, Evolutionary and structural perspectives of plant cyclic nucleotide-gated cation channels, *Front Plant Sci* **3**: 1-13 (2012).
 112. Zhou Y, Ramachandran S, Oh-Hora M, Rao A, Hogan PG, Pore architecture of the Orai1 store-operated calcium channel, *Proc Natl Acad Sci (USA)* **107**: 4896-4901 (2010).