

# НАТРИЕВЫЕ КАНАЛЫ ( $\text{Na}^+$ ) ВОЗБУДИМЫХ МЕМБРАН (продолжение)

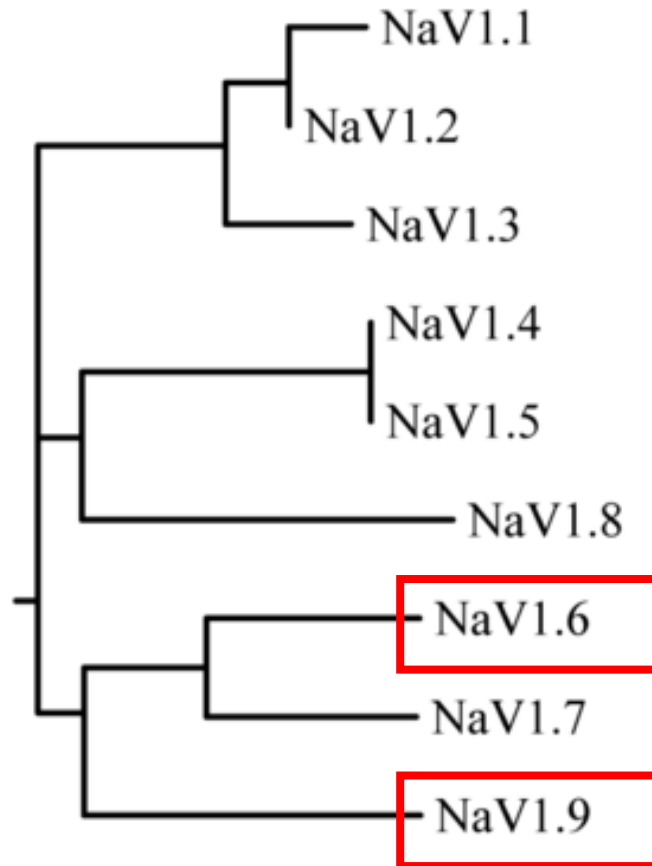
*Кафедра нейротехнологий*  
*Проф. Мухина И.В.*  
Лекция №7

# Содержание

1.  $Na_v1.6$  быстро инактивирующиеся каналы;
2.  $Na_v1.9$  очень медленно инактивирующиеся каналы;
3. Лигандзависимые Na-каналы (холинзависимые, глутаматзависимые).

1.  $\text{Na}_v1.6$  быстро  
инактивирующиеся каналы

# Филогенез натриевых каналов



# Na<sub>v</sub>1.6 быстро инактивирующиеся каналы

Название белка	Ген	Профиль экспрессии	Каналопатии
Na <sub>v</sub> 1.6	<a href="#">SCN8A</a> (Hs), <a href="#">Scn8a</a> (Mm), <a href="#">Scn8a</a> (Rn)	Центральные нейроны, спинальные ганглии, периферические нейроны, сердце, глиальные клетки	Эпилепсия, когнитивные нарушения с мозжечковой атаксией или без нее, эпилептическая энцефалопатия, ранняя инфантильная энцефалопатия

Номенклатура	Na <sub>v</sub> 1.6
Предыдущие и неофициальные названия	CerIII, NaCh6, PN4, MED, белок периферического нерва тип 4, натриевый канал 6, белок натриевого канала тип 8 субъединица альфа, атаксия 3, mnd2, nur14, seal, dmu
Активаторы	<a href="#">veratridine</a>
	<a href="#">batrachotoxin</a>
Блокаторы	<a href="#">tetrodotoxin</a> (поровый блокатор) IC <sub>50</sub> 1x10 <sup>-9</sup> M [-130.0 mV], крыса
	<a href="#">saxitoxin</a> (поровый блокатор)
Функциональные характеристики	Быстрая инактивация ( <b>1 ms</b> пик натриевого тока)

## Функция

**ПНС:** Дорсальные ганглии, узлы Ранвье сенсорных и моторных аксонов.

**ЦНС:** Сомато-дендритное распределение в нейронах мозжечка (клетки Пуркинье в клеточном слое мозжечковых гранул), коры головного мозга и гиппокампа, стволе и спинном мозге, узлы Ранвье в периферических нервах.

Nav1.6 регулирует инициацию и распространение потенциалов действия в нервной системе

**Na<sub>v</sub>1.6 :**

1. определяет постоянный ток (persistent current),
2. определяет рецидивирующий ток (resurgent current),
3. влияет на повторяющееся возбуждение нейронов,
4. локализованы в начальном сегменте аксона и узлах Ранвье с низким порогом возбуждения

**Потеря активности Nav1.6 приводит к снижению возбудимости нейронов, в то время как мутации, направленные на усиление функции канала могут повышать возбудимость нейронов.**

Mouse *Scn8a* (*med*) мутанты демонстрируют болезни движения:

- атаксия,
- дистония,
- тремор.

Более десяти мутаций *de novo* были идентифицированы у пациентов с двумя типами расстройств:

- эпилептическая энцефалопатия,
- умственная отсталость

# Потеря Nav1.6 снижает возбудимость нейронов у мутантных мышей

	Neuron	Mutant mouse	Neuronal activity	References
1	Cerebellar Purkinje cells	<i>med-tg, med</i>	Reduced repetitive firing, reduced resurgent current (–70%), reduced transient current (–50%)	Raman et al., 1997; Aman and Raman, 2007
2	Cerebellar granule cells	<i>Conditional knockout</i>	Reduced persistent current, reduced firing rate	Osorio et al., 2010
3	Trigeminal-mesencephalic	<i>med</i>	Reduced repetitive firing reduced resurgent current (–40%), reduced persistent current (–75%),	Enomoto et al., 2007
4	Retinal ganglion	<i>med-tg</i>	Reduced repetitive firing	Van Wart and Matthews, 2006
5	Cerebellar nucleus	<i>med</i>	No significant changes	Aman and Raman, 2007
6	DRG large and small diameter	<i>med-tg</i>	Reduced resurgent current (–100%)	Cummins et al., 2005
7	Subthalamic	<i>med</i>	Reduced resurgent current, altered firing	Do and Bean, 2004
8	Prefrontal cortical pyramidal	<i>med-tg</i>	Reduced resurgent current	Maurice et al., 2001
9	Hippocampal CA1	<i>med</i> (Stock No. 003798)	Reduced persistent, reduced resurgent, significant elevation of spike threshold, altered spike initiation, reduced spike gain	Royeck et al., 2008
10	Motor neurons	<i>med-J</i>	Reduced conduction velocity	Kearney et al., 2002
11	Globus pallidus neurons	<i>med-tg</i>	Impaired pacemaking, impaired capacity for fast spiking	Mercer et al., 2007



Роль гена *Scn8a* в регуляции возбудимости нейронов связана с тремя свойствами Nav1.6:

1. постоянный и рецидивирующий ток,
2. зависимость активации от напряжения,
3. субклеточная локализация в начальном сегменте аксона, месте инициации потенциалов действия.

# Постоянный ток

- Постоянный (**persistent**) ток - это стационарный (**a steady-state**) натриевый ток, который сохраняется после ПД и участвует в инициировании потенциала действия **при мембранных напряжениях, близких к порогу ПД.**
- Постоянный ток важен для генерации повторяющихся импульсов в нейронах, например таких, как мозжечковые клетки Пуркинье.
- Различия в величине постоянного тока в разных типах нейронов позволяют предположить, что это свойство модулируется нейронспецифическими факторами. Мутации, которые еще больше увеличивают постоянный ток Nav1.6, приводят к эпилептогенезу.

# Возрождающийся ток (**resurgent current**)

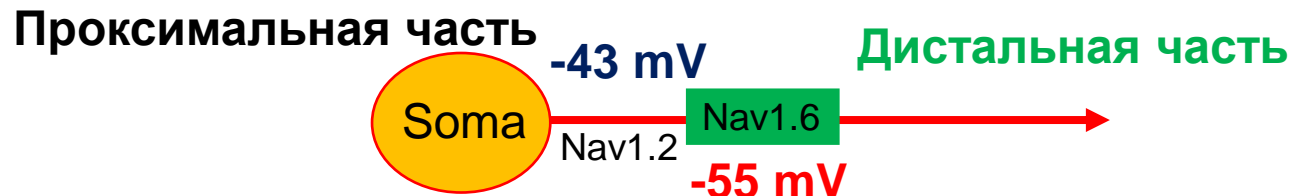
- Возрождающийся ток (**resurgent current**) - это свойство, зависящее от напряжения и времени, при котором **деполяризация после начального потенциала действия вызывает небольшой переходный ток.**
- Быстрая форма инактивации позволяет нейронам срабатывать быстро и многократно.
- Считается, что возрождающийся ток (**resurgent current**) способствует спонтанному запуску и многопиковым потенциалам действия
- Субъединица натриевого канала  $\beta 4$  участвует в генерации возрождающегося тока в мозжечковых нейронах Пуркинье

# Nav1.6 в начальном сегменте аксона

- Начальный сегмент аксона - это мембранный домен на проксимальном конце аксона, в котором концентрируются натриевые каналы, суммируются электрические сигналы от сомы и дендритов, а порог инициации потенциала действия самый низкий.
- Канальный состав начального сегмента, по-видимому, определяет порог срабатывания для различных типов нейронов. Nav1.6 концентрируется **в дистальной половине** начального сегмента аксона во многих нейронах, включая мозжечковые гранулярные клетки и мозжечковые клетки Пуркинье.
- При отсутствии Nav1.6 происходит перемещение Nav1.1 и Nav1.2 для занятия дистальных АИС ([Van Wart and Matthews, 2006](#); [Xiao et al., 2013](#)).

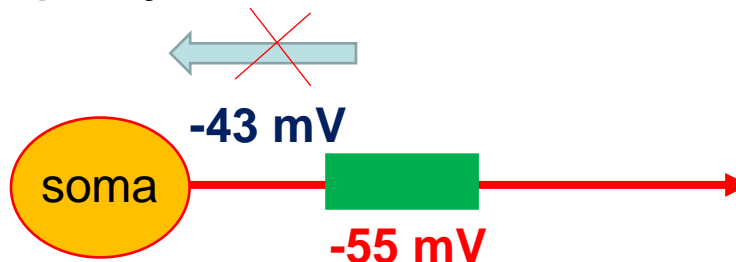
# В кортикальных пирамидных нейронах

- В кортикальных пирамидных нейронах потенциалы действия инициируются в дистальной части начального сегмента аксона, где концентрация натриевых каналов наиболее высока, в то время как в проксимальном содержится преимущественно Nav1.2.
- Порог активации в дистальном начальном сегменте аксона составляет -55 мВ, в то время как порог активации в проксимальном, ближайшем к соме, составляет -43 мВ, что согласуется с ролью Nav1.6 в снижении порога инициации потенциала действия.



# Обратное распространение

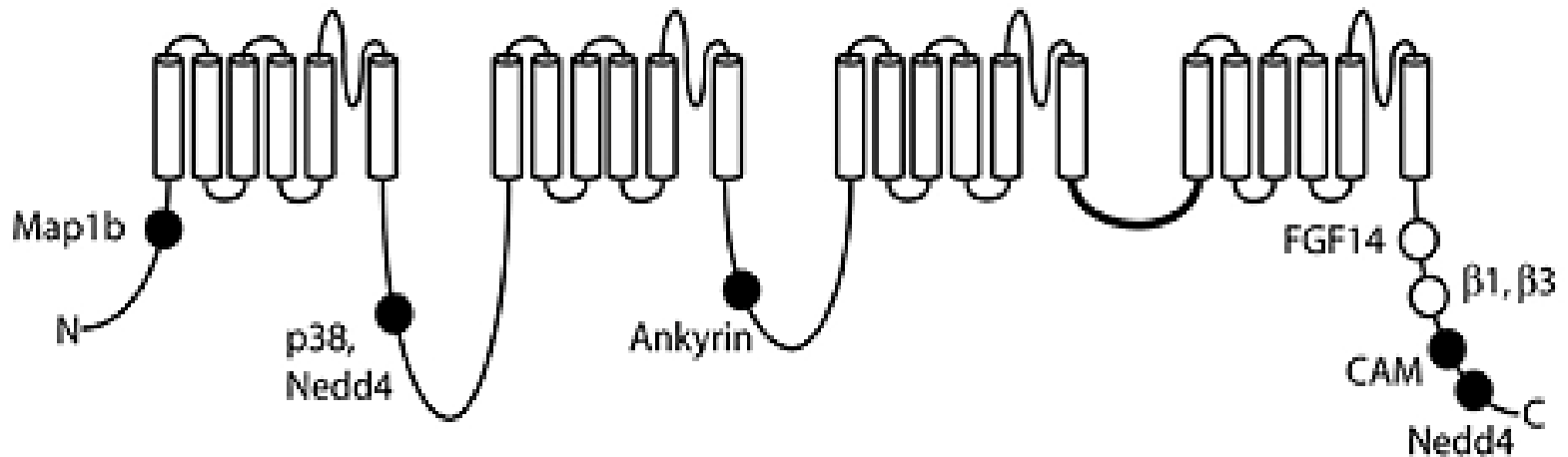
- Потенциалы действия в основном направлены по аксону в сторону от сомы. Обратное распространение в сому происходит иногда и с низкой частотой.
- Стимуляция тока в дистальной части не вызывает обратного распространения, в то время как стимуляцию тока в проксимальной части приводит к обнаружению потенциалов действия в соме.
- Таким образом, локализация Nav1.6 в дистальном отделе связана с более низким порогом инициации потенциала действия и направлением потенциала действия в сторону от сомы.



# Белковые взаимодействия Nav1.6

- N-конец Nav1.6 взаимодействует с легкой цепью ассоциированного с микротрубочками белка **MAP1b** (Mtap1b), и ко-трансфекция увеличивает плотность тока в трансфицированных клетках за счет увеличения трафика Nav1.6 на клеточную поверхность.
- **Фосфорилирование Nav1.6** стресс-активированной MAP-киназой p38 способствует связыванию убиквитинлигаз E3 и деградации каналов.
- Протеинкиназы PKA и PKC оказывают лишь незначительное влияние на активность каналов.
- **Анкирин G** связывается с первой внутриклеточной петлей Nav1.6 и другими нейронными натриевыми каналами и необходим для направленной локализации Nav1.6 в узлах Ранвье.

# Локации белковых взаимодействий с Nav1.6



Черные кружочки представляют собой сайты связывания, локализованные на специфических остатках Nav1.6: **Map1b** (77-80), p38 (553), **анкирин** (1089-1122), **кальмодулин** (1902-1912) и **Nedd4** (551-554 и 1943-1945).

Белые кружочки - сайты связывания, которые не были сопоставлены с определенными остатками.

**FGF14** играет ключевую роль в организации субъединиц в начальном сегменте аксона

Субъединицы **β1 - β4** представляют собой небольшие одно-трансмембранные белки молекулы клеточной адгезии, которые модулируют ток и поверхностную экспрессию α-субъединицы



- Кальций-чувствительный белок кальмодулин связывает мотив IQ, расположенный в С-конце Nav1.6 (остатки 1902-1912).
- Апо-кальмодулин ускоряет инактивацию, а  $\text{Ca}^{2+}$  повышает возбудимость Nav1.6;
- Считается, что убиквитинирование Nav1.6 Nedd4 нацелено на деградацию Nav1.6 и может быть частью реакции нейронального стресса.

Эти взаимодействия имеют отношение к генетике неврологических и психических расстройств, поскольку белки, связывающие Nav1.6, могут рассматриваться как гены-кандидаты для тех же самых расстройств, вызванных мутациями Nav1.6.

Кроме того, общие варианты взаимодействующих белков могут выступать в качестве модификаторов тяжести мутаций SCN8A у пациентов.

2.  $Na_v1.9$  очень медленно  
инактивирующиеся каналы

# Na<sub>v</sub>1.9 очень медленно инактивирующиеся каналы

Название белка	Ген	Профиль экспрессии	Каналопатии
Na <sub>v</sub> 1.9	<a href="#">SCN11A</a> (Hs), <a href="#">Scn11a</a> (Mm), <a href="#">Scn11a</a> (Rn)	Спинальные ганглии	Боль

Номенклатура	Na <sub>v</sub> 1.9
Предыдущие и неофициальные названия	NaN, SNS2, SCN12A, натриевый канал сенсорного нейрона 2, белок натриевого канала тип 11 субъединица альфа, NaT, NSS2
Блокаторы	<a href="#">tetrodotoxin</a> (поровый блокатор) IC <sub>50</sub> 3.9x10 <sup>-5</sup> М [-120.0 mV], крыса
Функциональные характеристики	Очень медленная инактивация ( <b>16 ms</b> пик натриевого тока)

## Функция

Ионная селективность ранжируется следующим образом:  
 $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Ca}^{2+}$  для Nav1.9, как и для других натриевых каналов.

Преимущественное распределение в нейронах DRG с-типа, нейронах тройничного нерва и их аксонах.

Электрофизиология патч-клэмпа демонстрирует устойчивый к ТТХ постоянный натриевый ток с широким перекрытием между активацией и установившейся инактивацией.

Nav1.9 оказывает **деполяризирующее влияние на потенциал покоя**, усиливает и продлевает медленную подпороговую деполяризацию и повышает возбудимость, обеспечивает эпизодический болевой синдром, воспалительную боль.

В ганглиях дорсального корешка (DRG) находятся механорецепторы с низким порогом активации.

- Ток, генерируемый NaV1.9, является "**постоянным**" и может быть активирован при потенциалах, близких к потенциалу покоящейся мембраны ( $\sim$ **-60 мВ**);

Активация:

- Порог -70 to -60 mV (rat DRG), -80mV (human) V-a = -47 to -54 mV (rat DRG);
- 2.93 ms at -60 mV, 4.1 ms at -50 mV, 3.5 ms at 20mV, and 2.5 ms at -10 mV.

Инактивация:

- Порог от -44 до -54 mV;
- 843 ms at -60 mV, 460 ms at -50 mV, 43 ms at -20mV, and 16 ms at -10 mV

# Взаимодействия Nav1.9

- Существует несколько молекул, которые увеличивают токи Nav1.9 в нейронах DRG: **медиаторы воспаления** (PGE2, серотонин, брадикинин, гистамин, PGE3 и норадреналин).
- Медиаторы воспаления увеличивают натриевый ток Nav1.9, действующий через G-белок-зависимый механизм;
- Секретируемые белки, повышающие выживаемость нейронов (BDNF, GDNF): GDNF увеличивал экспрессию функциональных Nav1.9-подобных токов в аксотомированных нейронах дорсального корневого ганглия;
- Коэкспрессия с рецептором TrkB.3. Поверхностная локализация Nav1.9, по-видимому, связана с его ассоциацией с молекулой клеточной адгезии, контактирующей с/F3.

# **NaV1.9 является важную роль в воспалительных болевых состояниях**

- В то время как селективный блокатор NaV1.9 в настоящее время не существует (Мибефрадил, недигидропиридиновый антагонист ICaT, блокирует Nav1.9), нокаутные мыши SCN11A демонстрируют четкий анальгетический фенотип, подтверждая, что NaV1.9 является важным игроком в генерации гипералгезии при воспалительных болевых состояниях.
- Влияние на NaV1.9 может помочь регулировать болевые пороги после воспаления или травмы.
- Функция Nav1.9 в сенсорных путях резко снижается при различных моделях нейропатической боли:
  - после невропатической травмы;
  - в модели невропатической боли тройничных ганглиев;
  - несколько моделей и человеческих случаев корешковой боли.

# Типы Na рецепторов

- 1. Потенциалзависимые:** "Voltage-gated", "voltage-sensitive", or "voltage-dependent" sodium channel also called "VGSCs" or "Nav channel"
- 2. Лигандзависимые:** ligand-gated sodium channels



### 3. Лигандзависимые Na-каналы (холинзависимые, глутаматзависимые)

# Лиганд-зависимые каналы

- Лиганд-зависимые каналы **почти нечувствительны** к изменению мембранного потенциала;
- Лиганд-зависимые каналы генерируют электрический сигнал, сила которого зависит от количества медиатора, поступающего в синаптическую щель и времени, которое он там находится.

**Table II**  
**Neurotransmitter Families**

---

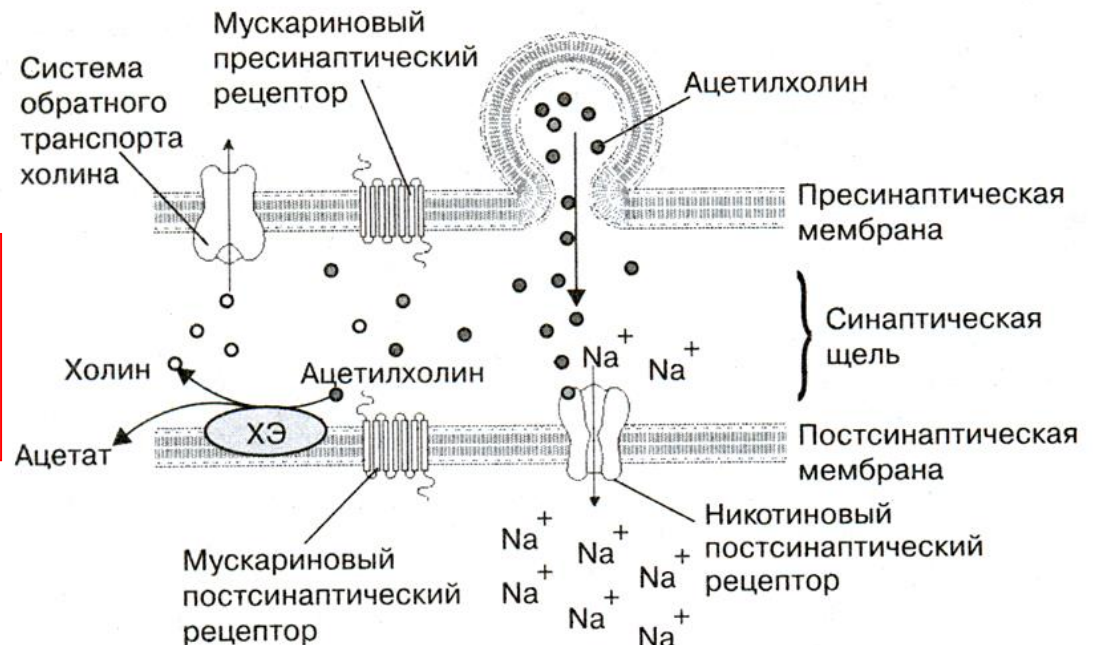
Adrenergic receptors	$\alpha$ 1a, 1b, 1c, 1d, 2a, 2b, 2c, 2d $\beta$ 1, 2, 3
Dopaminergic receptors	D1, D2, D3, D4, D5
GABA receptors	GABA-A, GABA-B1A, B1 $\gamma$ B2, GABA-C
Glutaminergic receptors	NMDA, AMPA, kainate, MGLUr-1–7
Histamine receptors	H1, 2, 3
Cholinergic receptors	Muscarinic: M1–5 Nicotinic: muscle, neuronal
Opioid receptors	$\mu$ , $\gamma$ , $\kappa$
Serotonergic receptors	5HT-1A, 1B, 1D, 1E, 1F, 5HT-2A, 2B, 2C, 5HT-3, 4, 5, 6, 7

---

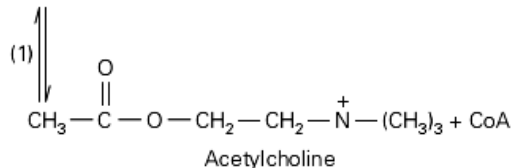
# Холинергический синапс

## Рецепторы на постсинаптической мембране:

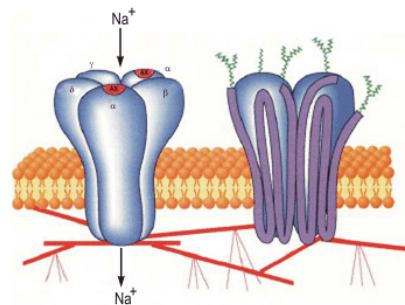
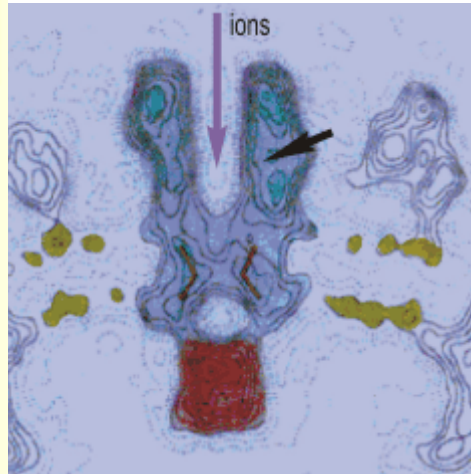
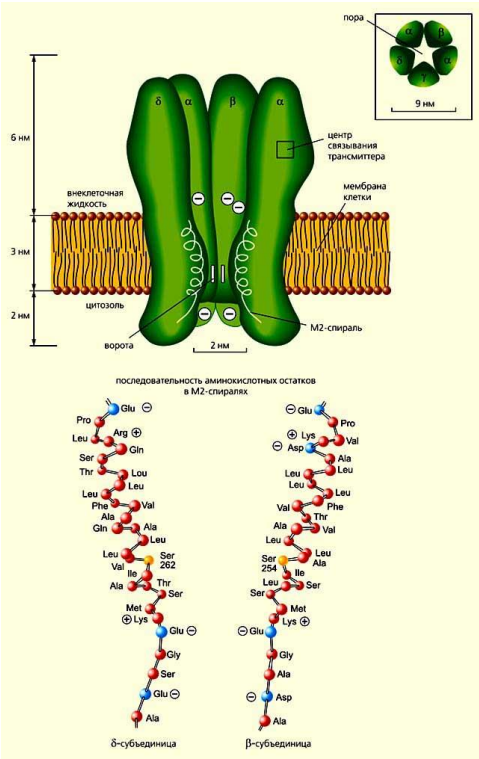
- **N-тип (агонист – никотин).** Ионотропные, ионные каналы для  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Na}^{+}$ . **ВПСП;**
- **M-тип (агонист – мускарин).** Подтипы M1-M4. Метаботропные, ионные каналы для  $\text{Ca}^{2+}$  (ВПСП) и  $\text{K}^{+}$  (ТПСП). Вторичные мессенджеры – инозитол-3-фосфат и диацилглицерид (M1), циклический АМФ (M2)



Acetyl CoA + choline



# Ацетилхолиновый никотинзависимый ионотропный рецептор (250 кДальтон)

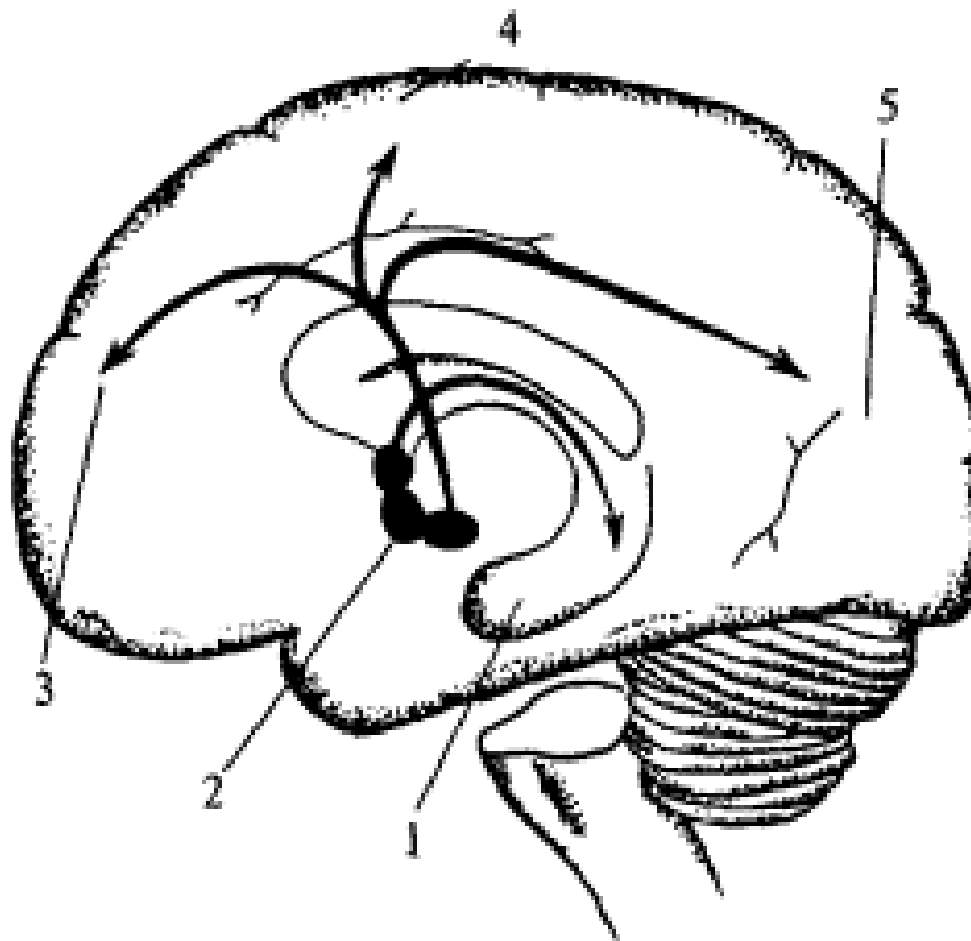


Рецептор изображен синим, фосфолипидные головки мембраны желтым и прикрепленный цитоплазматический белок розовым. Рецептор приблизительно 12 нм длиной выдвинут приблизительно на 6.5 нм во внеклеточное и на 1.5 нм во внутриклеточное пространство. Узкая пора (длинная стрелка) диаметром ~2 нм сформирована кольцом из пяти  $\alpha$ -спиралей. Участок связывания АХ выглядит как карман (короткая стрелка) в  $\alpha$ -субъединице и расположен приблизительно в 5 нм от ворот (*Лаборатория Молекулярной Биологии, Кембриджа.*)

$\alpha 2$ ,  $\beta$ , гамма, дельта и эпсилон субъединицы

Антагонистом для никотиновых рецепторов является [тубокурарин](#)

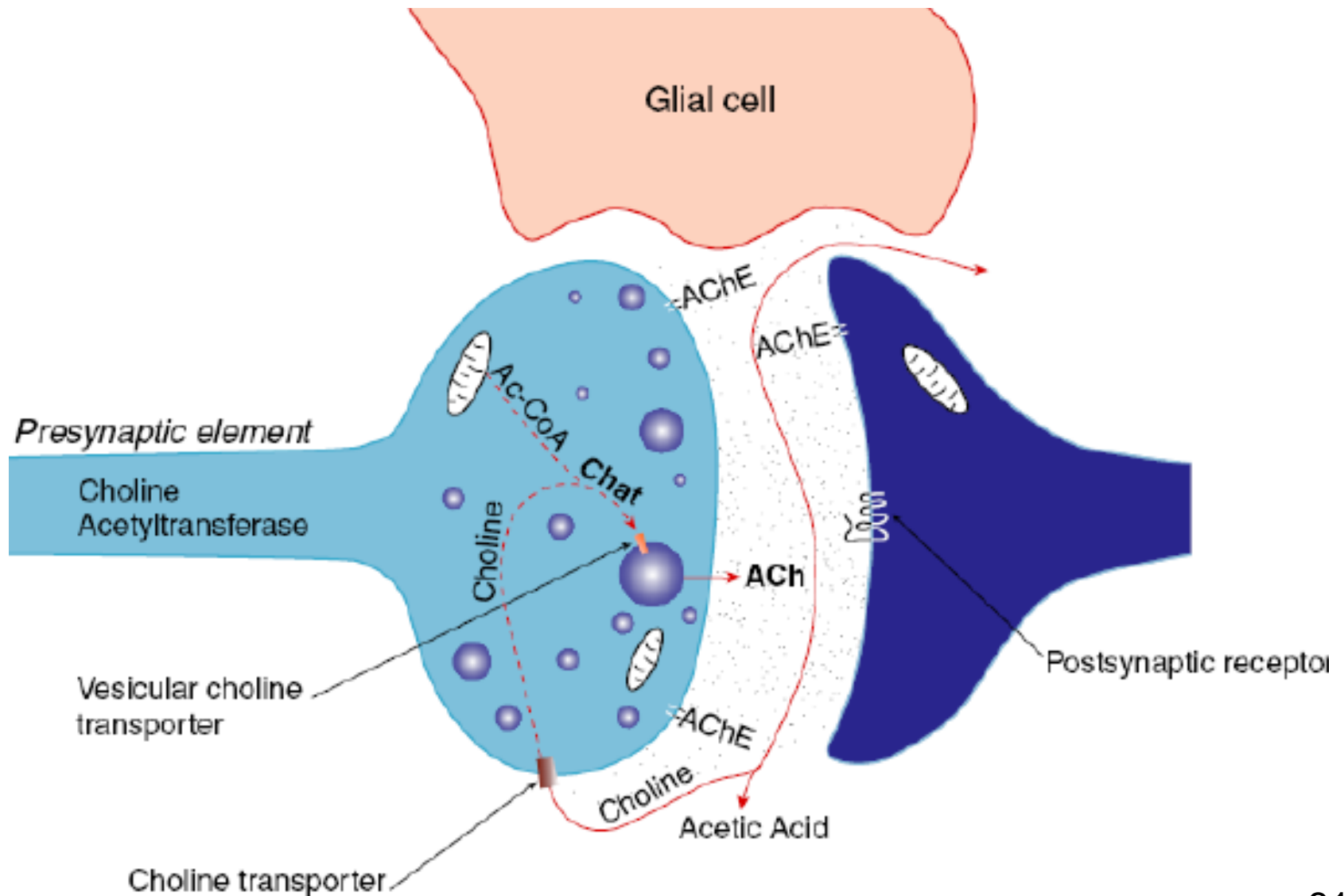
- Через открытые ионные каналы могут проходить ионы калия и натрия в соотношении **1:1**.
- Натриевые и калиевые токи **направлены противоположно**.
- Соотношение зависит от уровня мембранного потенциала.
- Время открытия канала – 1 мс
- электропроводимость 50 pS (мышечный) и 15-40 pS (нейрональный),



### Ацетилхолинергические пути в головном мозге (схема).

1 — гиппокамп; 2 — базальное ядро; 3 — фронтальная кора; 4 — теменная кора; 5 — затылочная кора.

# Схема холинергической синаптической передачи



# Глутаматные рецепторы

- Ионотропные
  - AMPA (преимущественно  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  проводимость)
  - Каинатные ( $\text{Na}^+/\text{K}^+$  и  $\text{Ca}^{2+}$  проводимость)
  - NMDA (значительная  $\text{Ca}^{2+}$  проводимость) – потенциал-зависимые
- Метаботропные
  - mGluR группы I, II и III

(N-метил-D-аспартат);

AMPA (2-альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазольпропионовая кислота) ;

KA (каиновая кислота).

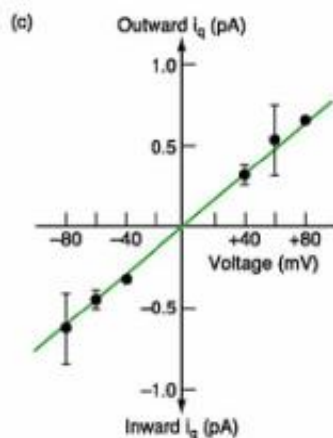
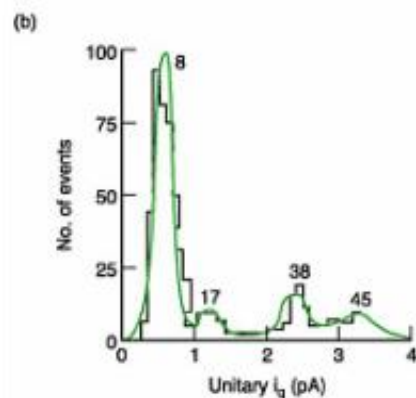
Подтипы рецепторов глутамата						
	Ионотропные			Метаботропные		
Функциональные классы	NMDA	AMPA	KA	Class I	Class II	Class III
Гены	NR1	GluR1	GluR5	mGluR1	mGluR2	mGluR4
	NR2A	GluR2	GluR6	mGluR5	mGluR3	mGluR6
	NR2B	GluR3	GluR7			mGluR7
	NR2C	GluR4				mGluR8
	NR2D		KA1			
	NR3		KA2	$\text{I}_3\text{Ф}$ , кальций	цАМФ	
	лиганд-зависимые ионные каналы			Система вторичных посредников		



# 1. Ионотропные AMPA рецепторы

## альфа-амино-3-гидрокси- 5-метилилсоксазол-4-пропионатные

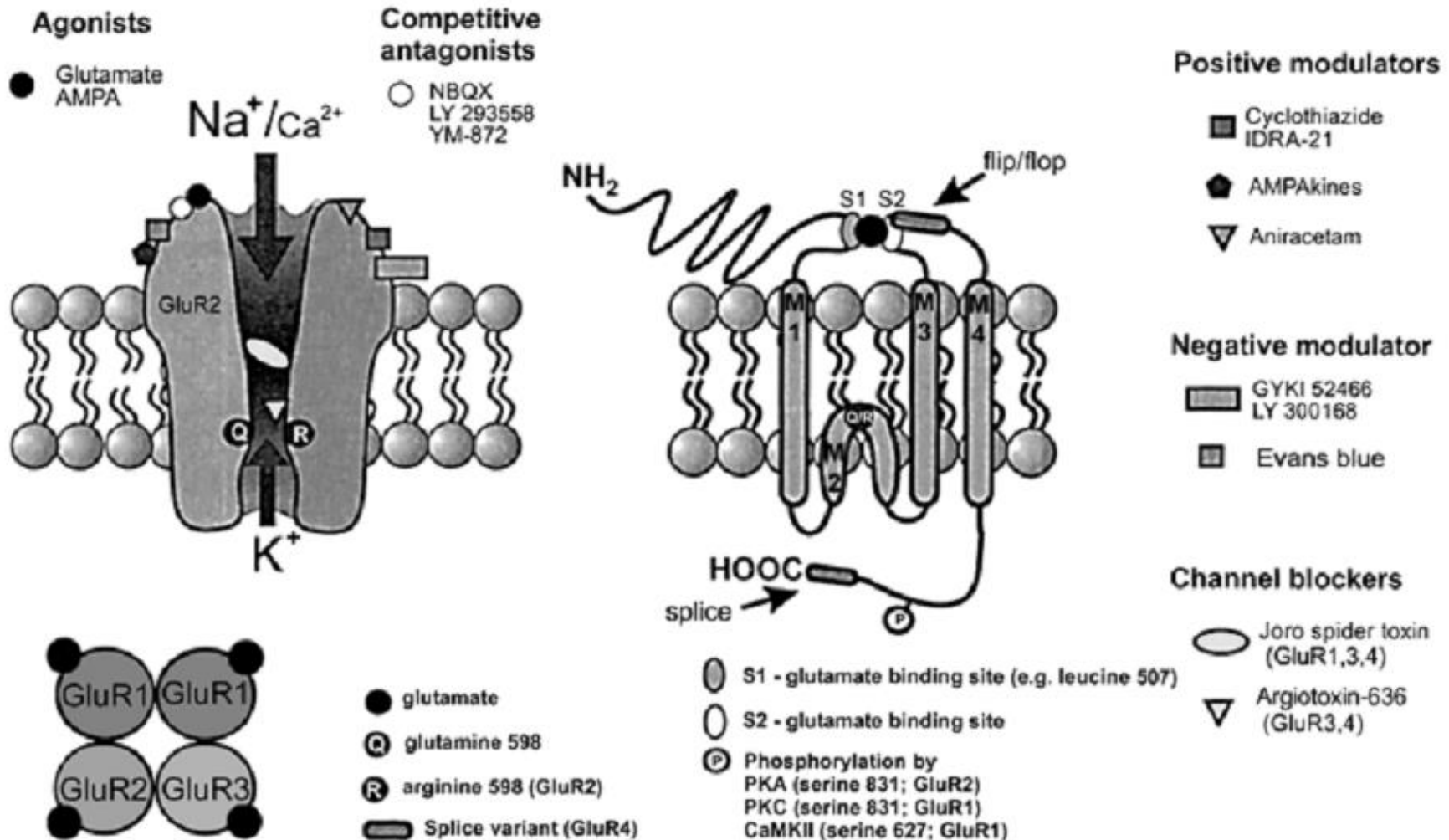
- AMPA-рецепторы обладают меньшим сродством к глутамату, чем NMDA-рецепторы, но они обладают быстрой кинетикой и формируют быстрый компонент возбуждающего постсинаптического потенциала.
- присутствие в AMPA-рецепторе субъединицы GluR2 (GluRB) меняет его свойства: в открытом состоянии он становится непроницаем для ионов кальция.



Вольтамперная характеристика

Функции ионотропных рецепторов не ограничиваются только открытием канала. Эти функции связаны со способностью внутриклеточной карбоксильной терминали взаимодействовать с широким кругом внутриклеточных белков, которые вовлечены в структурно-функциональную организацию постсинаптического аппарата и внутриклеточную передачу сигналов. Например, AMPA-рецепторы активируют тирозин-киназу, которая запускает каскад митоген-активированной протеинкиназы.

# Ионотропные AMPA рецепторы (подтипы и топология)



## 2. Ионотропные каинатные рецепторы

Состоят из 5 типов субъединиц  
GluR5,6,7, KA1, KA2

функциональны гомомеры GluR5 и  
GluR6

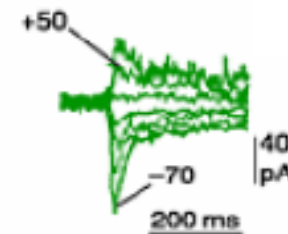
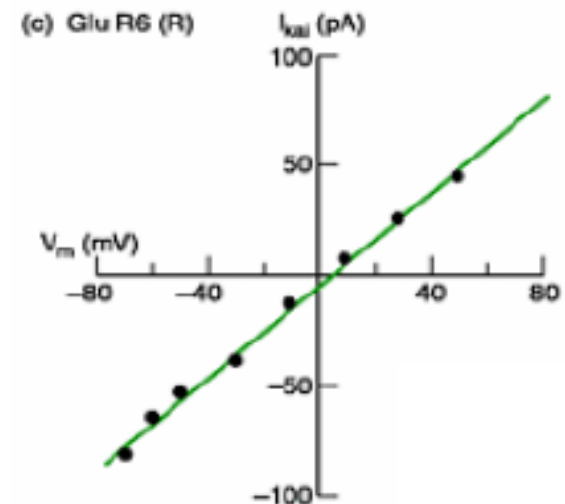
Гетеромеры KA2 с GluR5 или GluR6

Рецепторы быстро  
десенситизируются (но вероятно  
не все)

Субклеточное распределение может  
отличаться от AMPA (возможно,  
преимущественно  
внесинаптические рецепторы)

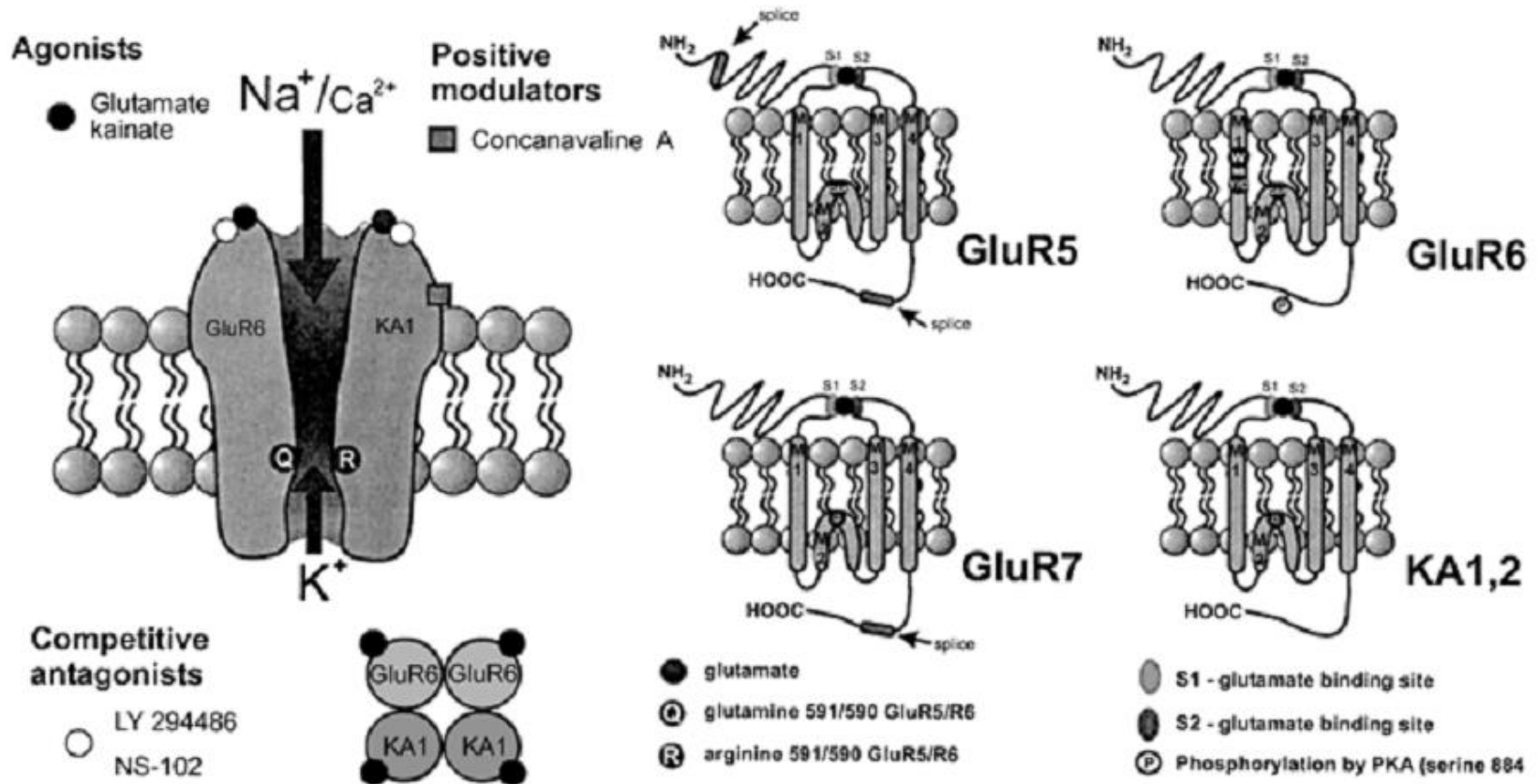
Имеются данные о нейротоксических свойствах глутамата, связанных с активацией каинатных рецепторов, приводящей к изменению проницаемости постсинаптической мембраны для одновалентных ионов  $K^+$  и  $Na^+$ , усилению входящего тока ионов  $Na^+$  и кратковременной деполяризации постсинаптической мембраны, что в свою очередь вызывает усиление притока ионов  $Ca^{2+}$  в клетку через агонист-зависимые (NMDA-рецепторов) и потенциал-зависимые каналы (Buchan A.M., Li H. 1991, Buchan A.M., Xue D. 1991, Diemer N.H., Jorgensen M.B. 1992, Li H., Buchan A.M. 1993, Schousboe A., Frandsen A. 1994, Sheardown M.J., Suzdak P.D. 1993).

Поток ионов  $Na^+$  сопровождается входом в клетки воды и ионов  $Cl^-$ , что приводит к набуханию апикальных дендритов и лизису нейронов (теория "осмотического повреждения нейронов").

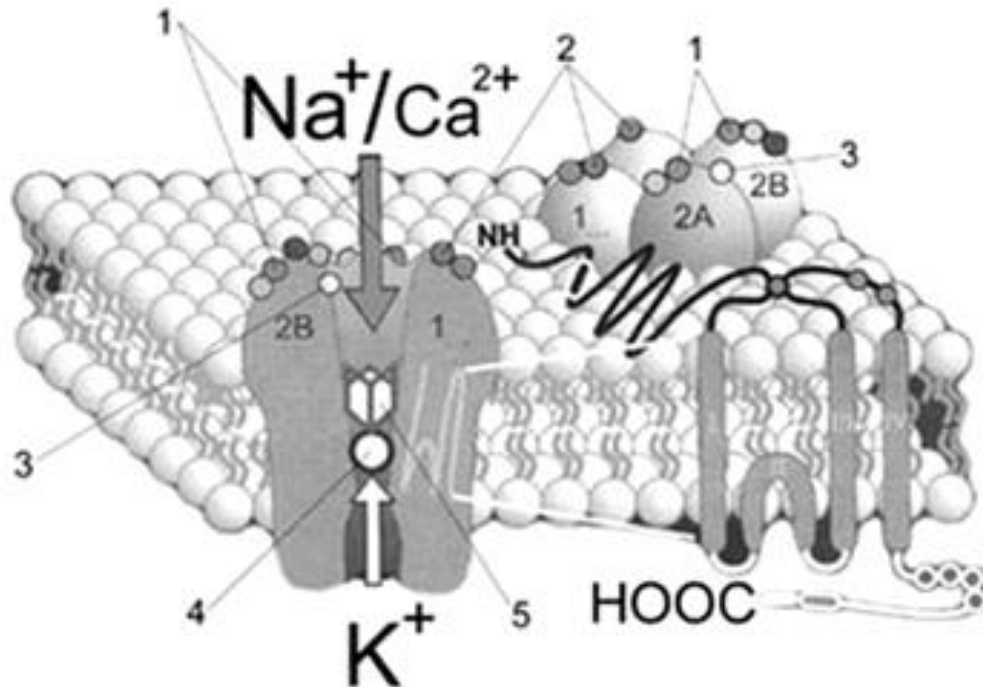
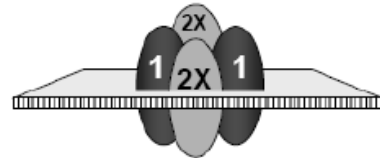
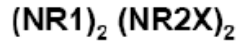


Вольтамперная  
характеристика

# Ионотропные каинатные рецепторы (подтипы и топология)



### 3. Ионотропные потенциалзависимые NMDA рецепторы



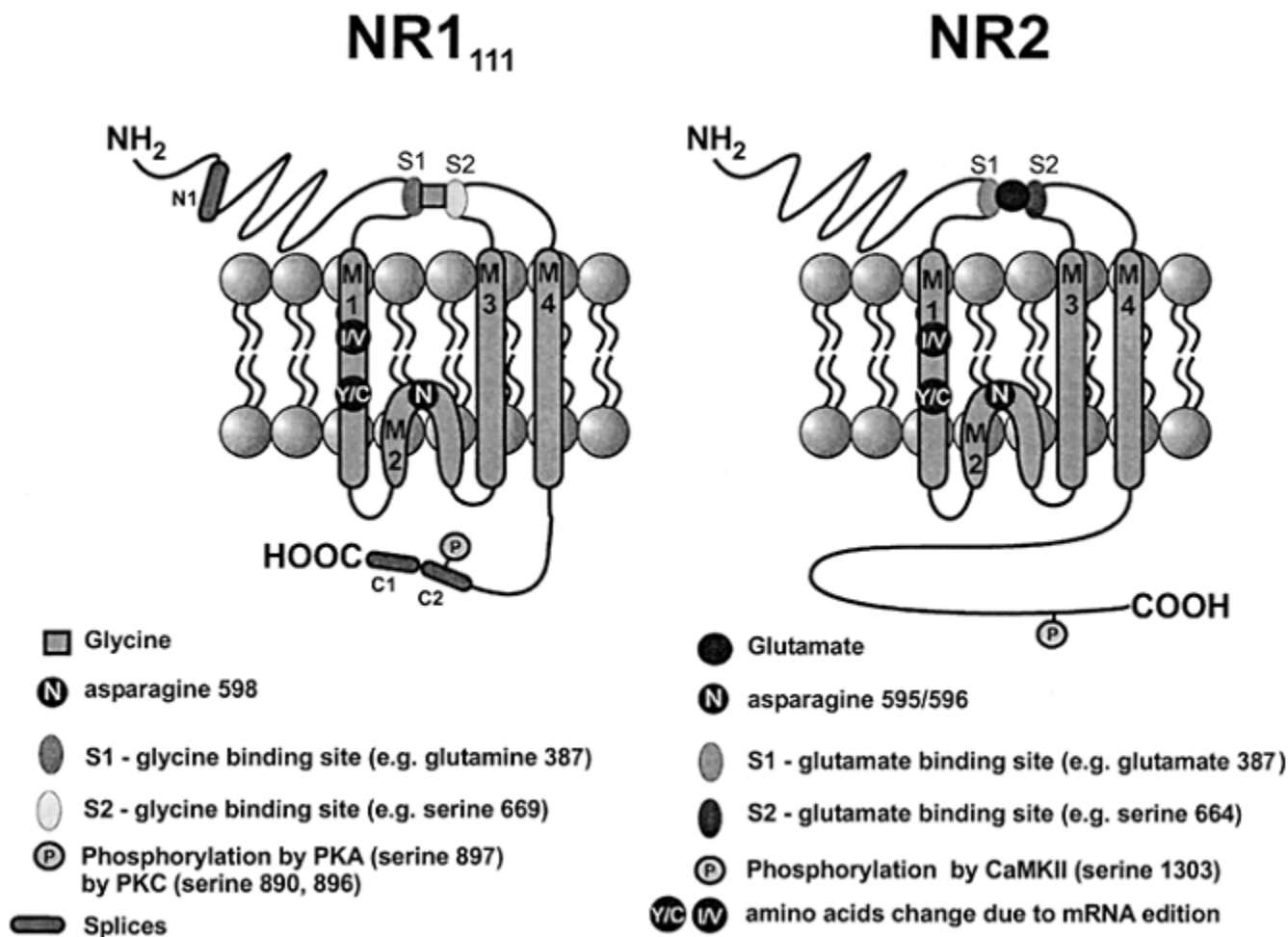
участки связывания:

- |              |            |                                     |
|--------------|------------|-------------------------------------|
| 1 - глутамат | 2 - глицин | 4 - Mg                              |
| NMDA         | 3 - Zn     | 5 - мидантан (фенциклидиновый сайт) |

- NMDA-рецепторы состоят из четырех субъединиц, по 40-92 кД каждая, (двух NR1 и двух из четырех NR2A, **NR2B**, NR2C, NR2D). Эти субъединицы являются гликопротеидлипидными комплексами.
- NMDA-рецептор представляет из себя **целый рецепторно-ионофорный комплекс**, включающий в себя:
  - 1) сайт специфического связывания **медиатора** (L-глутаминовой кислоты);
  - 2) регуляторный, или **коактивирующий** сайт специфического связывания **глицина** (серина);
  - 3) аллостерические модуляторные сайты, расположенные на мембране (**полиаминовый**) и в ионном канале (сайты связывания **фенциклидина**, двухвалентных катионов и **потенциалзависимый Mg<sup>2+</sup>-связывающий участок**).



# Схематичное изображение NMDA-рецептора



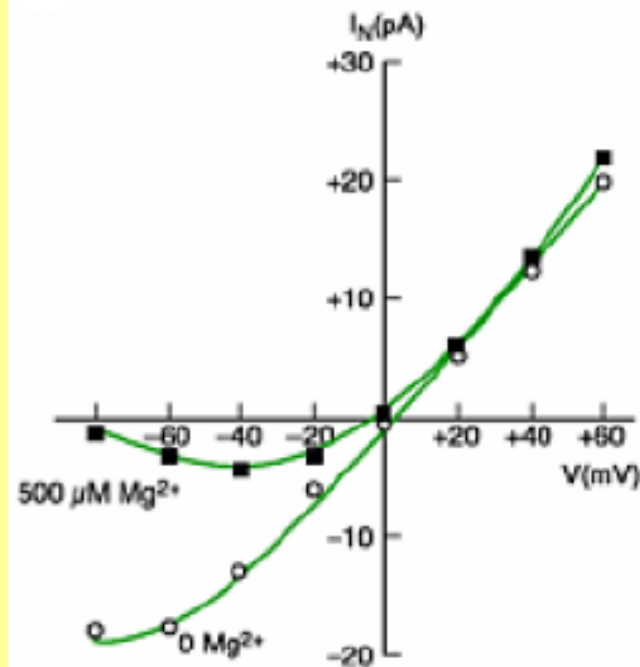
# Ионотропные потенциалзависимые NMDA рецепторы (продолжение)

NMDA-рецепторы обладают рядом особенностей:

- одновременно хемо- и потенциал-чувствительностью,
- медленной динамикой запуска и длительностью эффекта,
- способностью к временной суммации и усилению вызванного потенциала.

• Наибольшие ионные токи при активации агонистами возникают при **деполяризации мембраны в узком диапазоне -30 - -20 мВ** (в этом проявляется потенциалзависимость NMDA-рецепторов). Ионы  $Mg^{2+}$  селективно блокируют активность рецепторов при высокой гиперполяризации или деполяризации.

• **Глицин** в концентрации 0,1 мкМ усиливает ответы NMDA-рецептора, увеличивая частоту открывания канала. При полном отсутствии глицина рецептор не активируется L-глутаматом .  
*В некоторых областях мозга для работы NMDA-рецептора требуется присутствие **D-серина** в качестве коагониста (например, в переднем мозге).*



Вольтамперная характеристика

# Схема глутаматергической передачи

