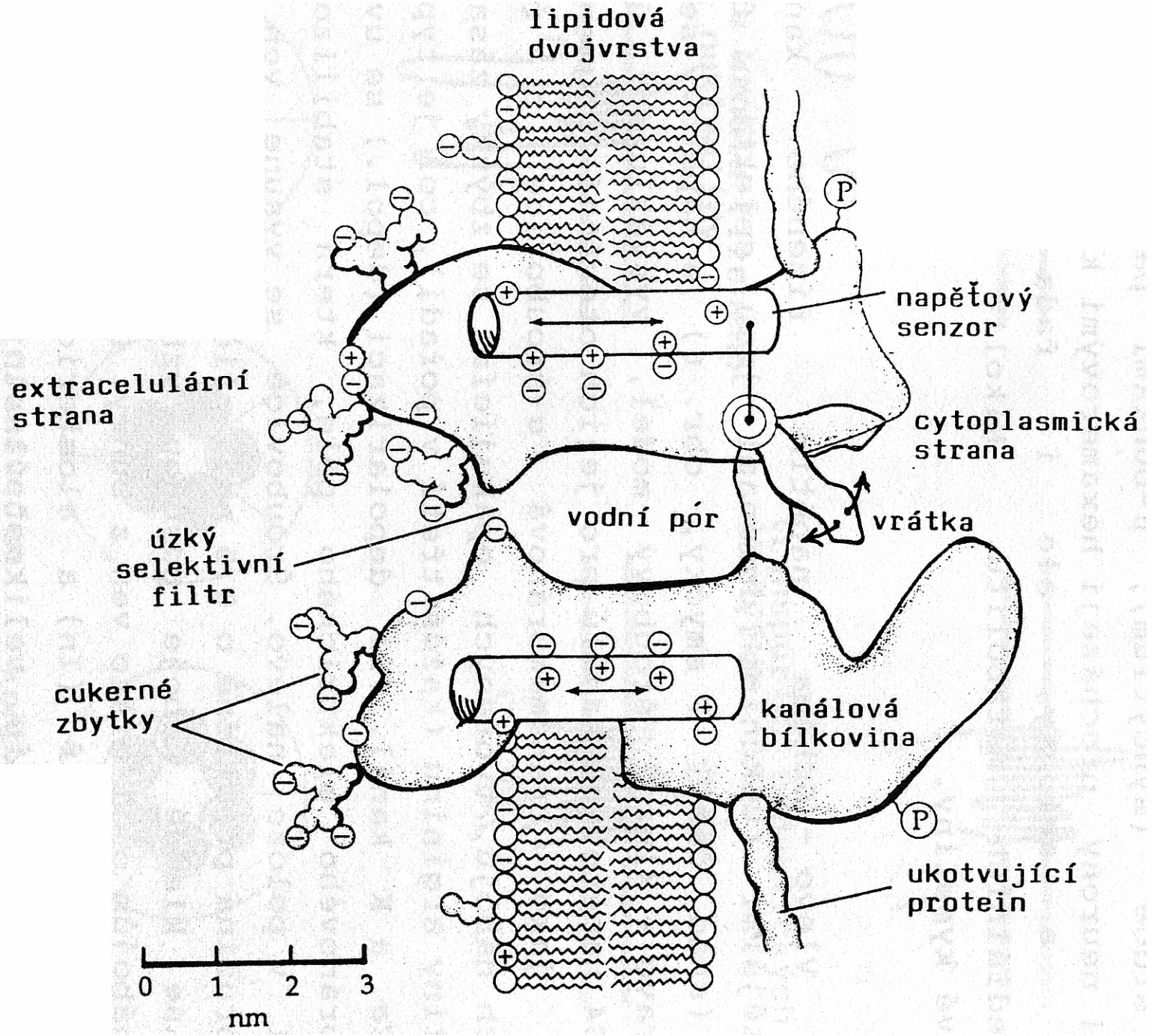


# Napětově aktivované iontové kanály a kanálopatie

# Napětím aktivované iontové kanály

- Sodíkové kanály
- Draslíkové kanály
- Vápníkové kanály
- Chloridové kanály

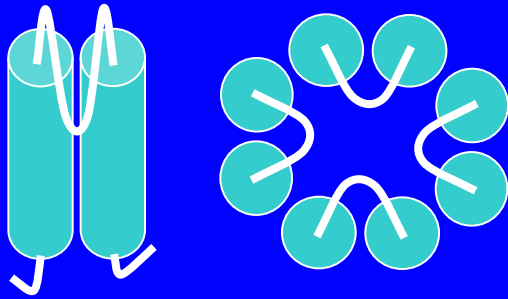


I. Dvořák, Ústav pro výzkum v oblasti fyzikální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

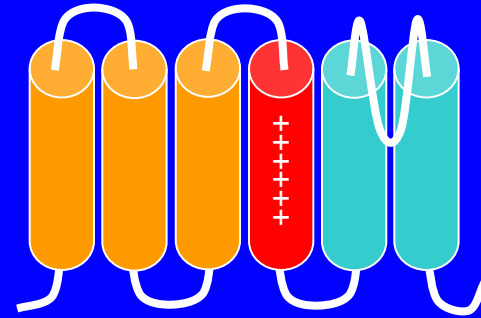
I. Dvořák, Ústav pro výzkum v oblasti fyzikální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno

# Architektura podjednotek tetramerních kanálů

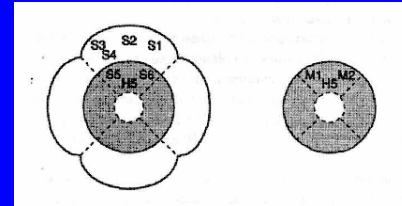
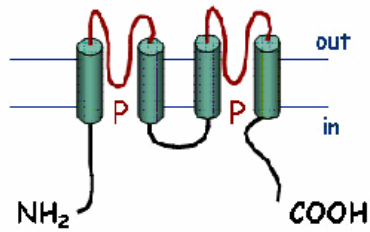
2TM



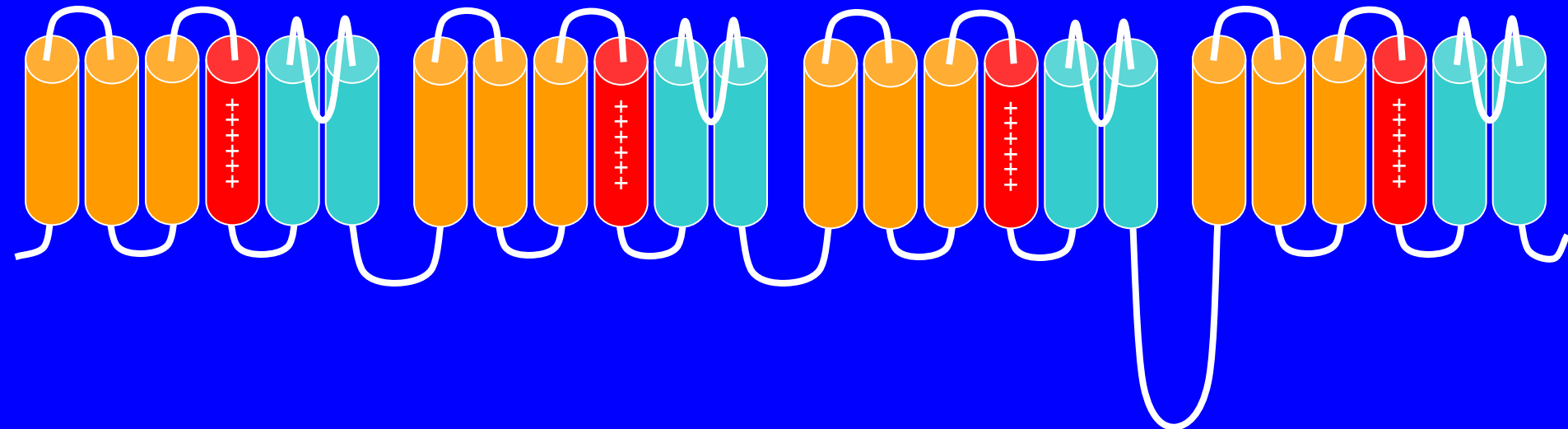
6TM



4TMD-2P

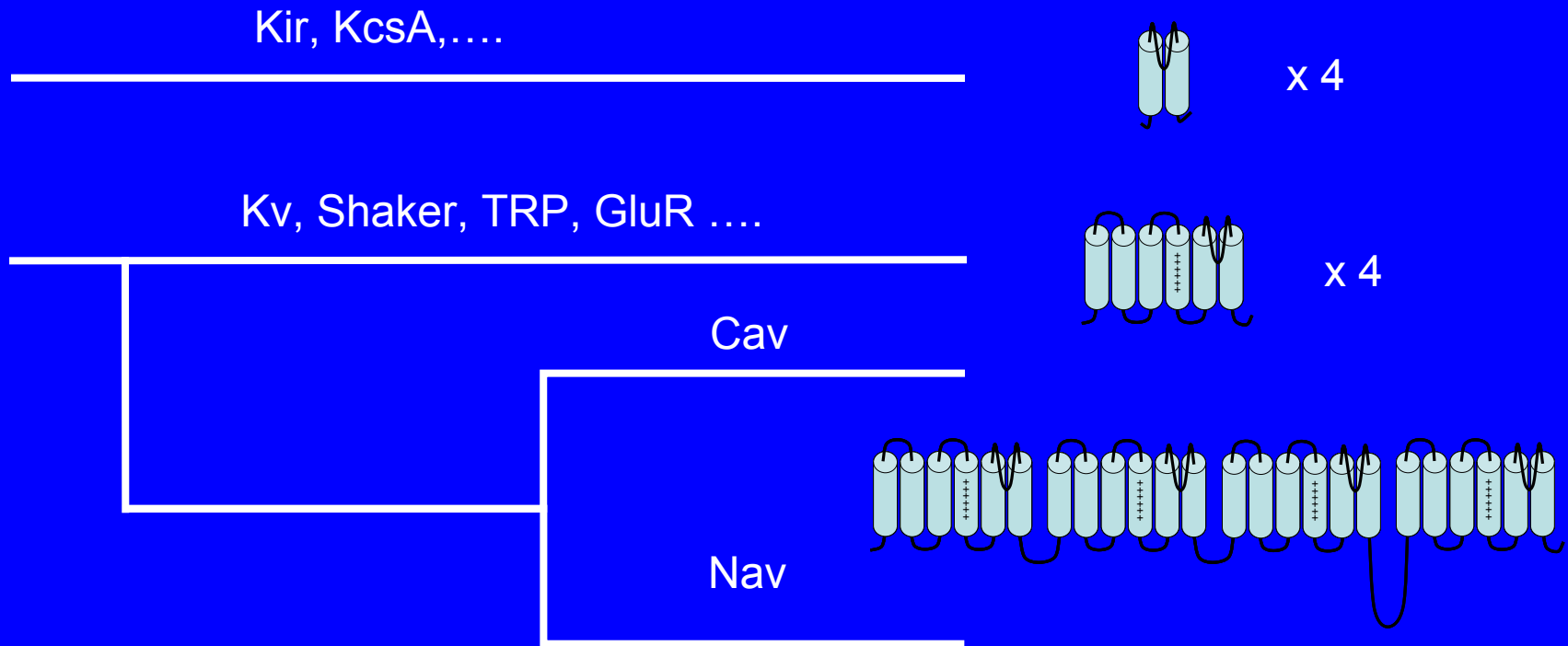


24TM



# Příbuznost tetramerních iontových kanálů

?

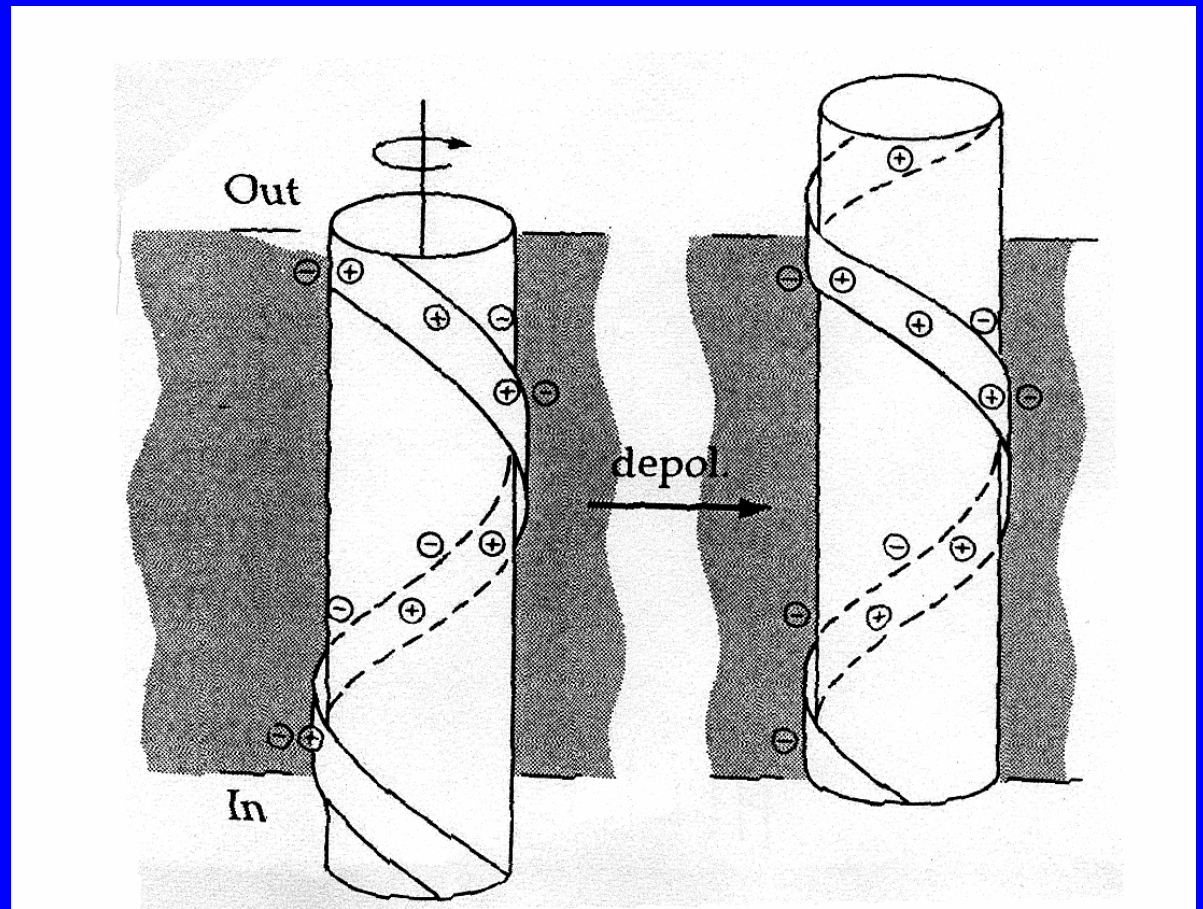
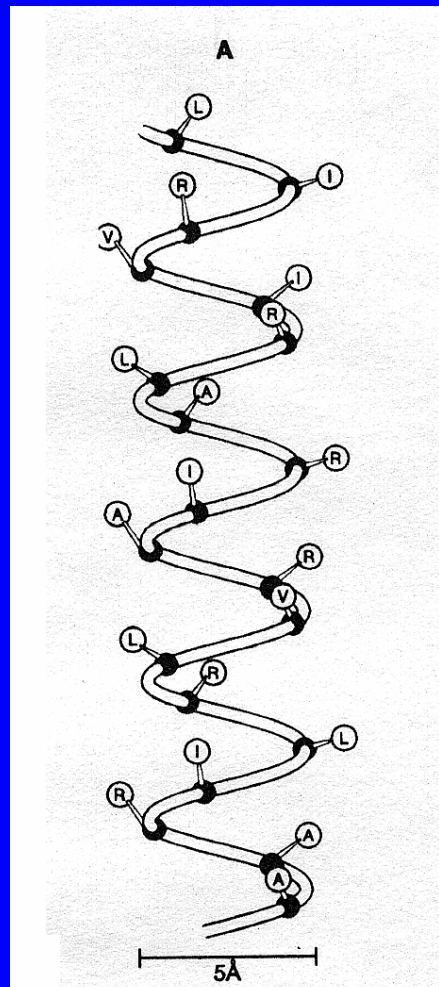


# Elektrická pole ovládající kanál

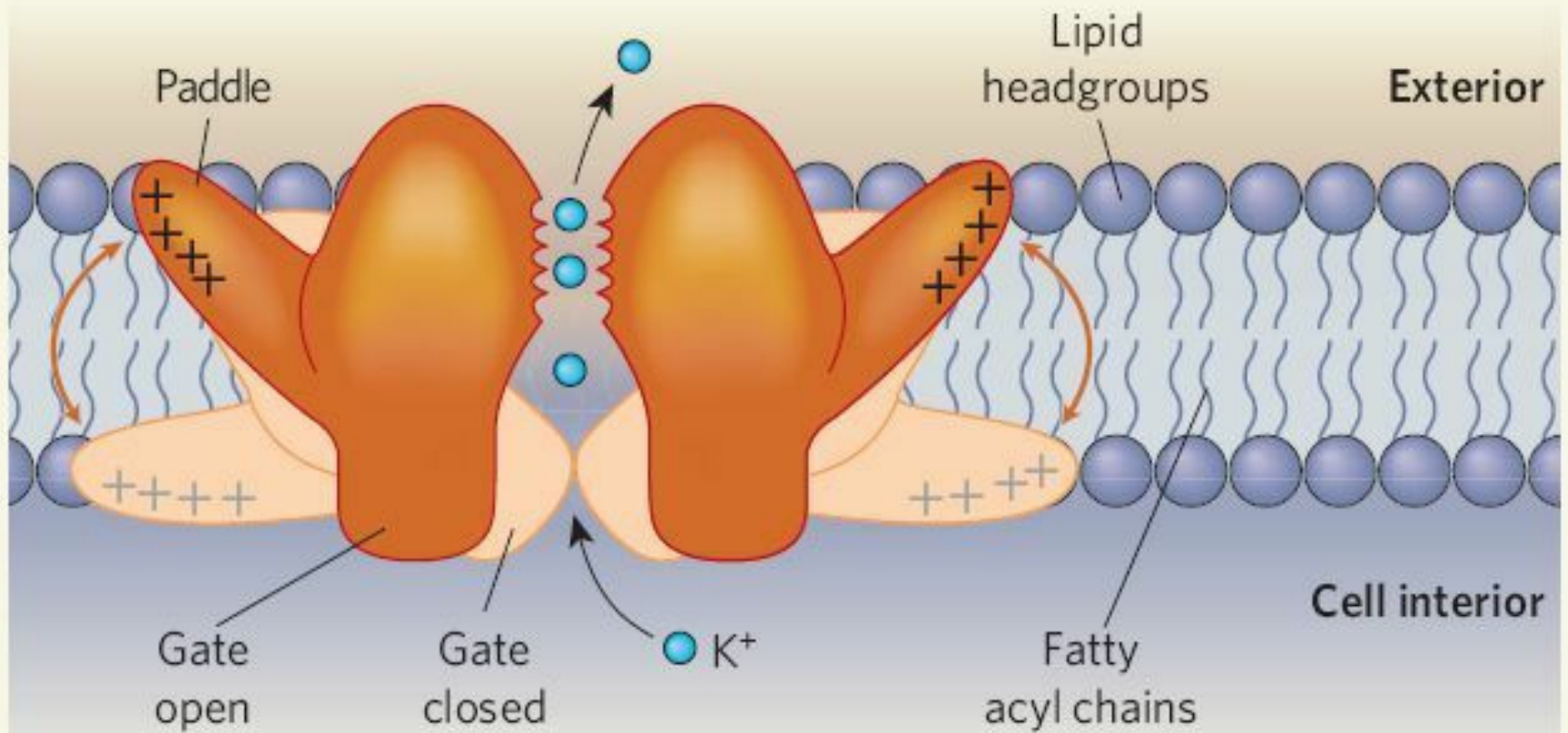
- Transmembránový potenciál
- Řádově 60 mV na vzdálenost 3-6 nm
- 10-20 milionů V/m
- Povrchový potenciál
- Lokální elektrická pole
- Dipólový potenciál



# M4 napět'ový senzor



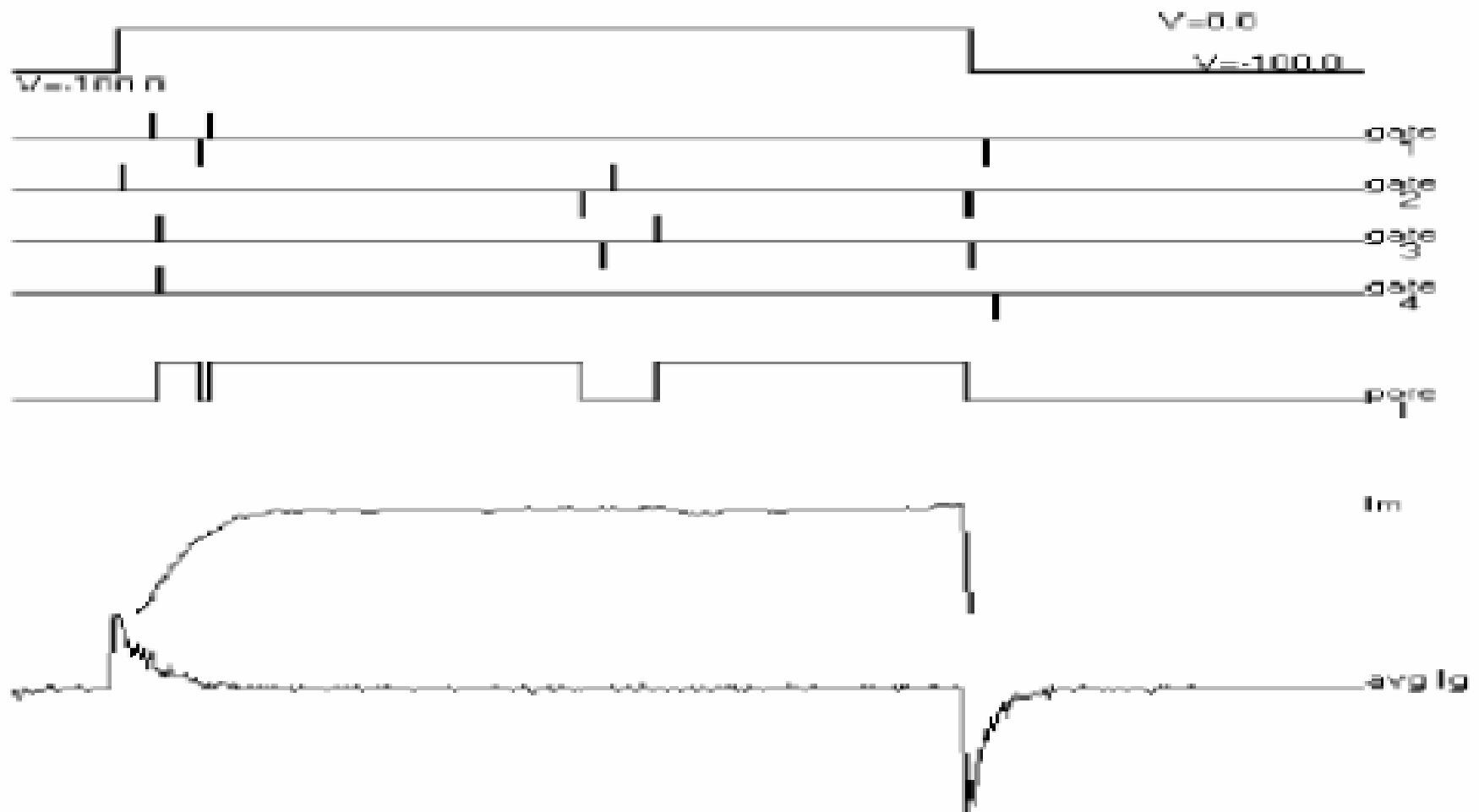
# “Paddle in oil”





# Vrátkovací proudy

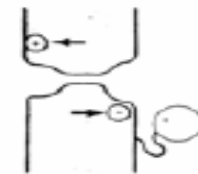
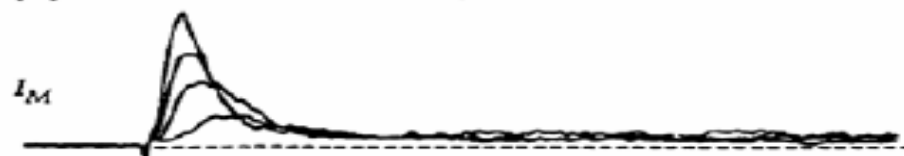
~ 6-12 nábojů přes membránu



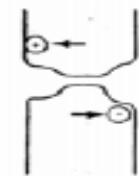
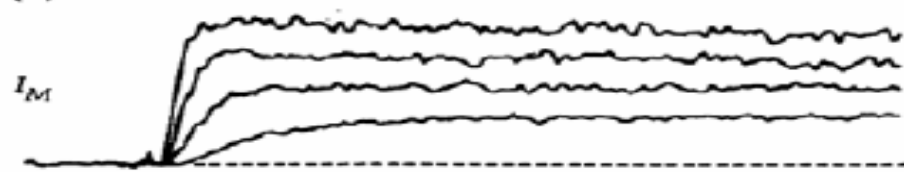
# Inaktivace iontových kanálů

## Inactivation kinetics of A-type K-channels

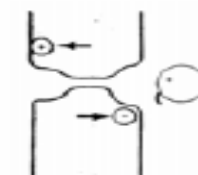
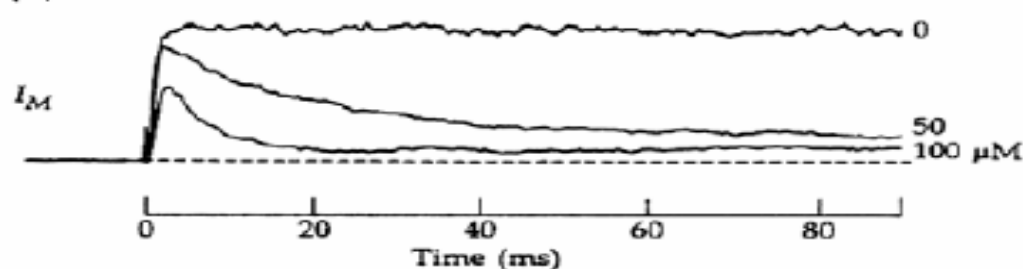
(A) WILD TYPE ShB



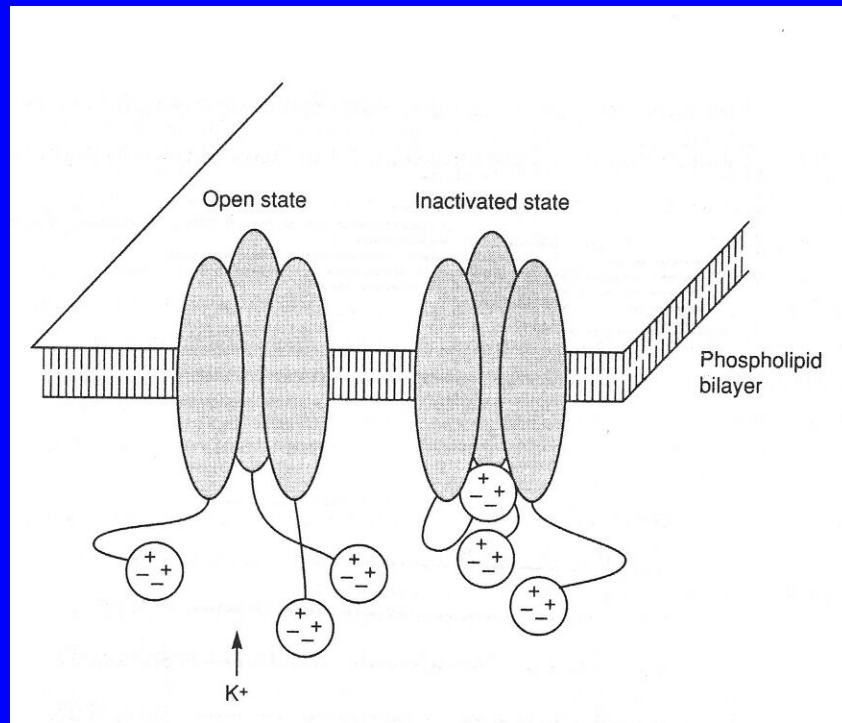
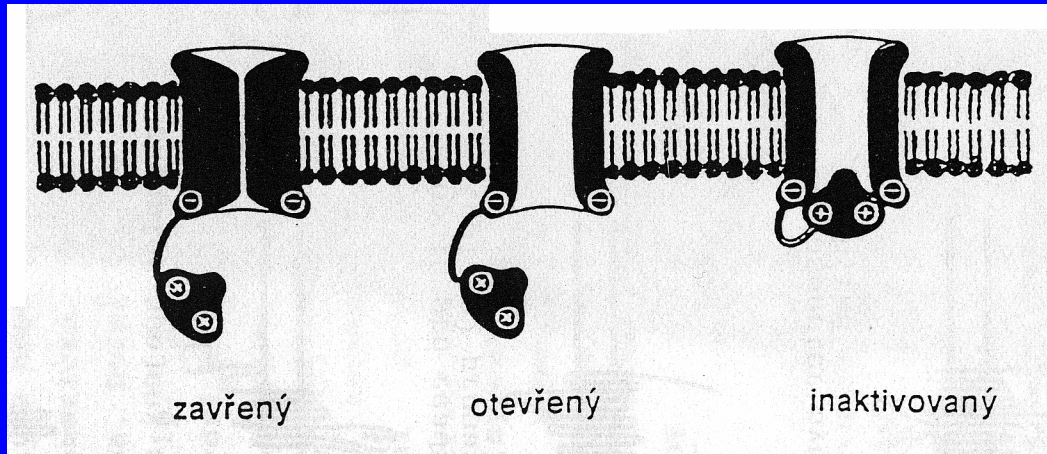
(B) DELETION MUTANT  $\Delta 6-46$



(C) MUTANT + ShB PEPTIDE



(Sh Shaker)



# Sodíkové a draslíkové iontové kanály

- K -Podílejí se na udržování a regulaci membránového potenciálu
- Inhibované tetraethylamoniem (TEA), 4-aminopyridinem (4-AP) a ionty  $\text{Cs}^+$
- Na- Podílejí se na vzniku a šíření akčního potenciálu
- Inhibované tetrodotoxinem (TTX) a saxitoxinem

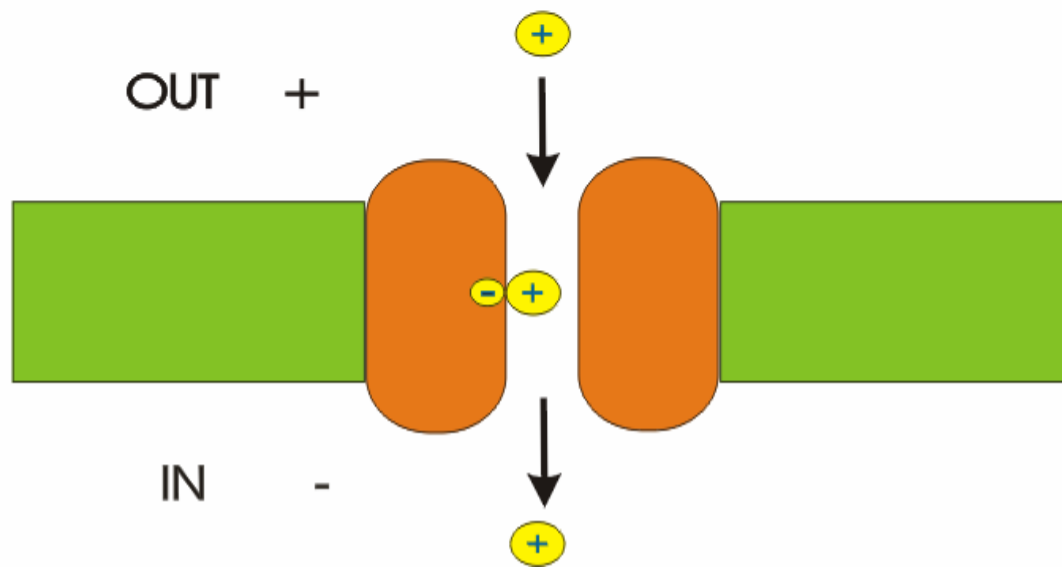
# Selektivita kanálů

$\text{Na}^+, \text{K}^+$  1:10-1:100

Na 0,95 A    -105 kcal/mol

K    1,33A    -85 kcal/mol

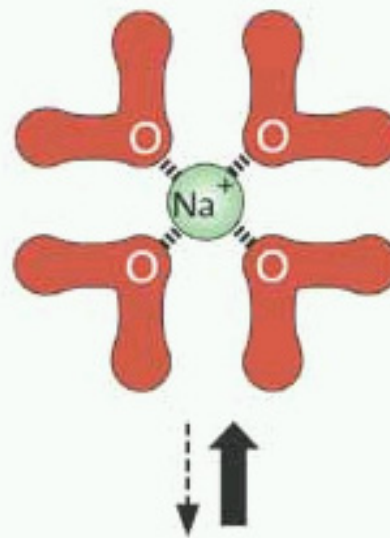
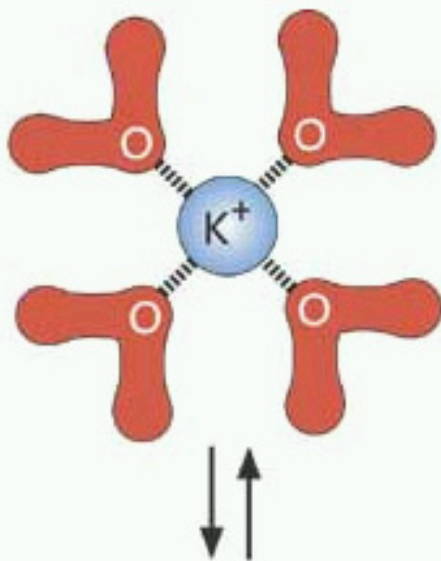
Ca    0,99A    -397 kcal/mol



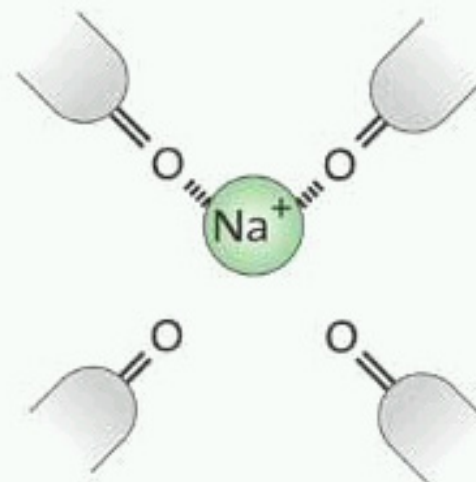
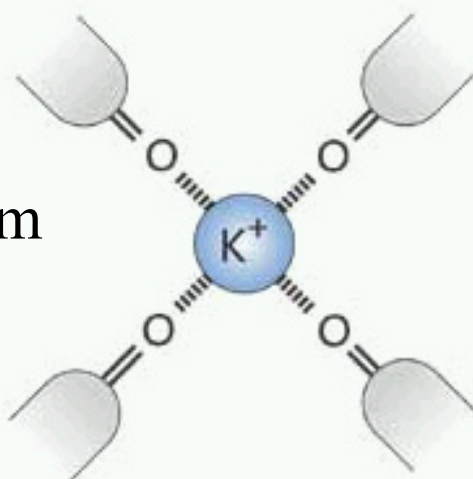


# Selektivita draslíkových kanálů

Ionty ve vodě

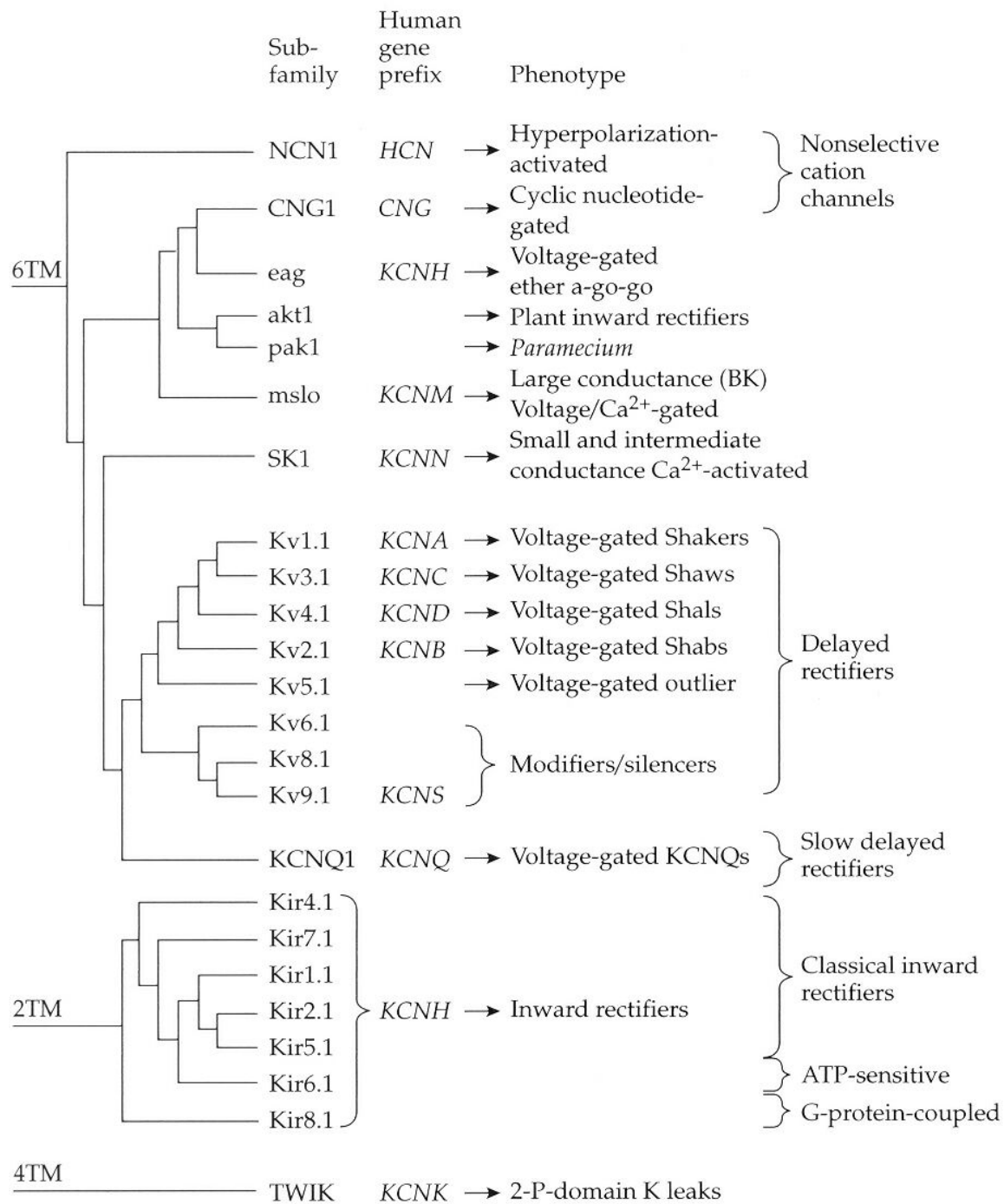


Ionty v selektivním filtru kanálu

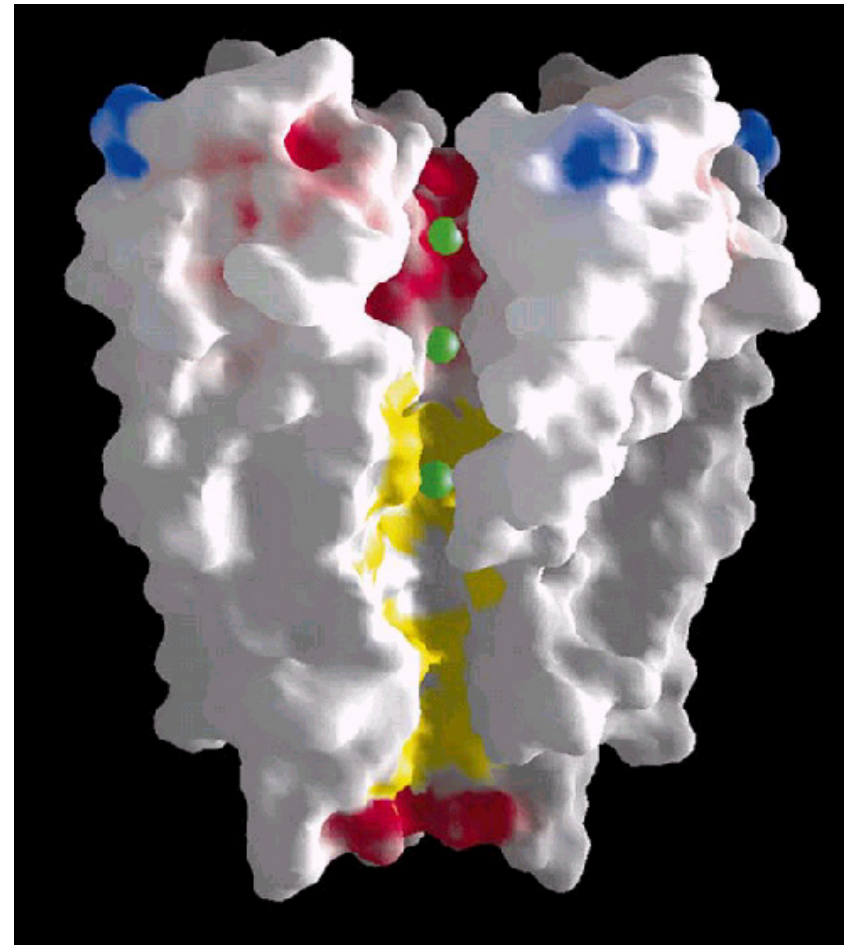
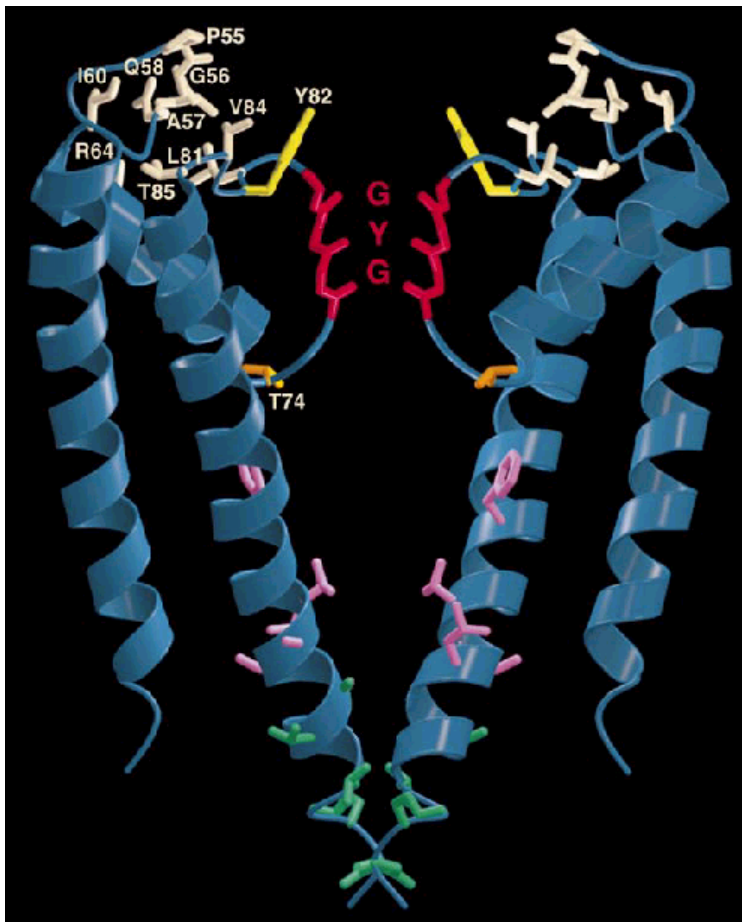


# Draslíkové kanály

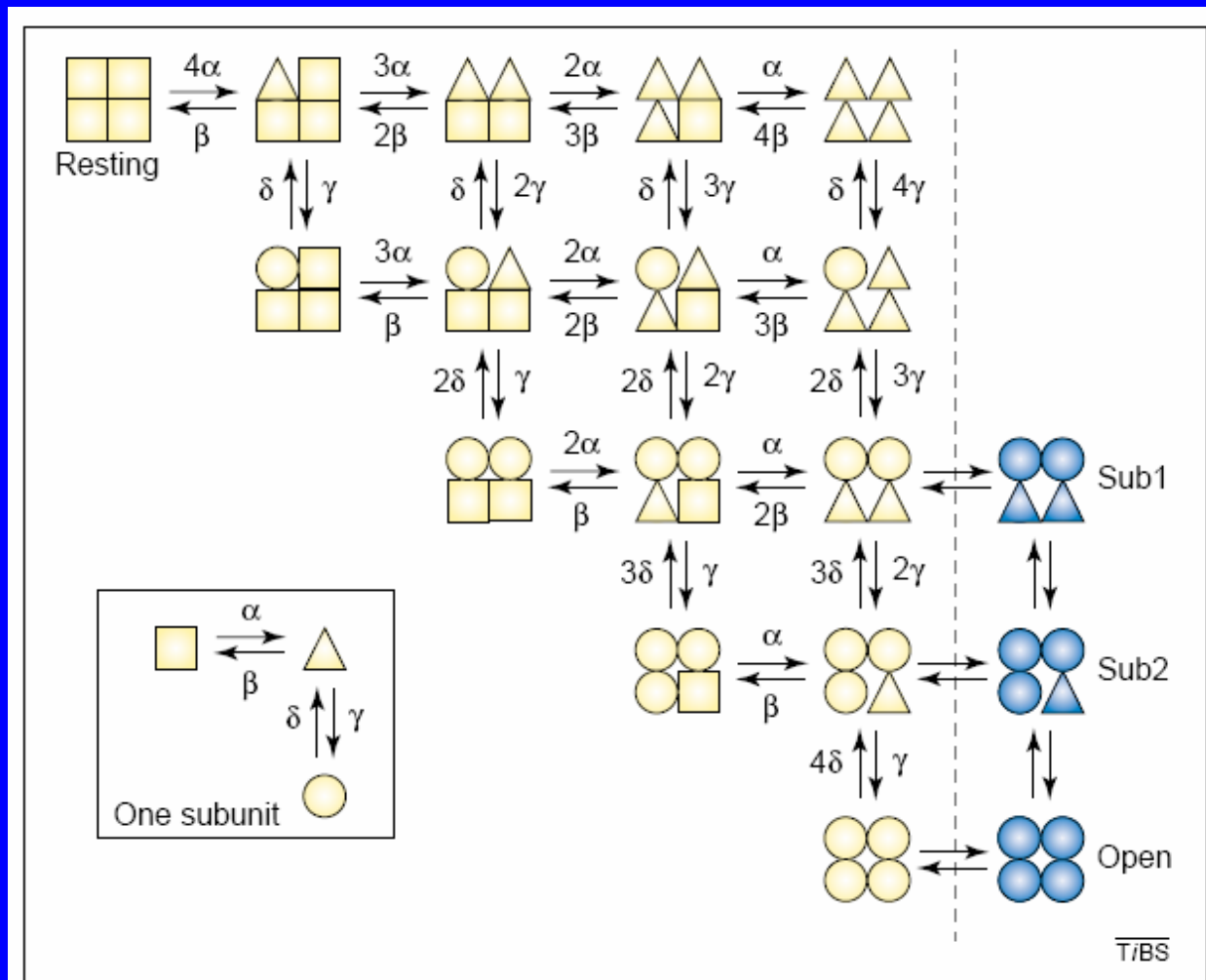
- Tvorba membránového potenciálu
- Inward rectifier Kir- 2TM
- Trvale otevřené dimerní 2PK - 4TM
- Repolarizace buněk
- Delayed rectifier Kv- 6TM
- Vápníkem stimulované
- Sodíkem stimulované



# KcsA K<sup>+</sup> iontový kanál

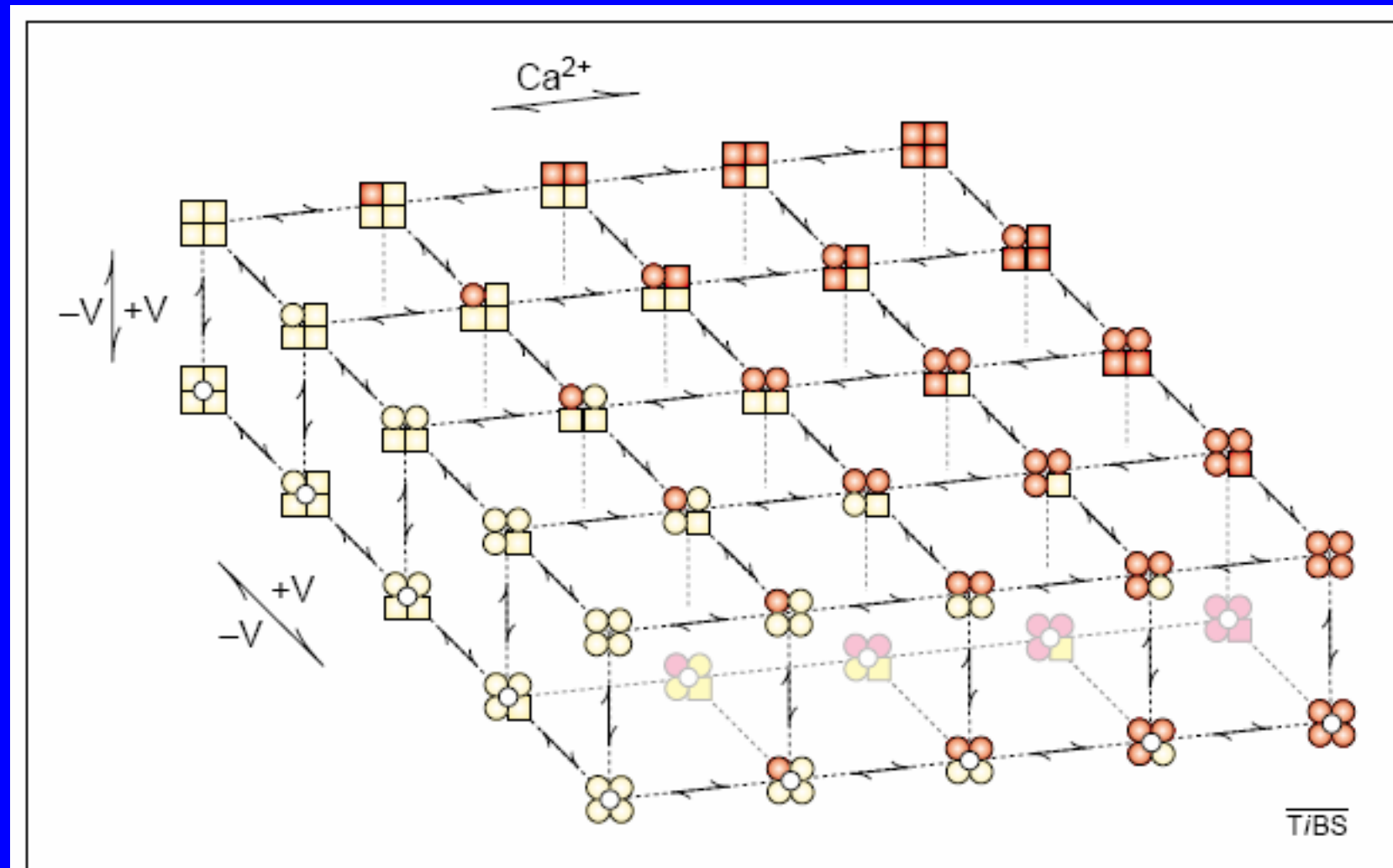


# Kinetické schéma aktivace kanálu typu *Shaker*

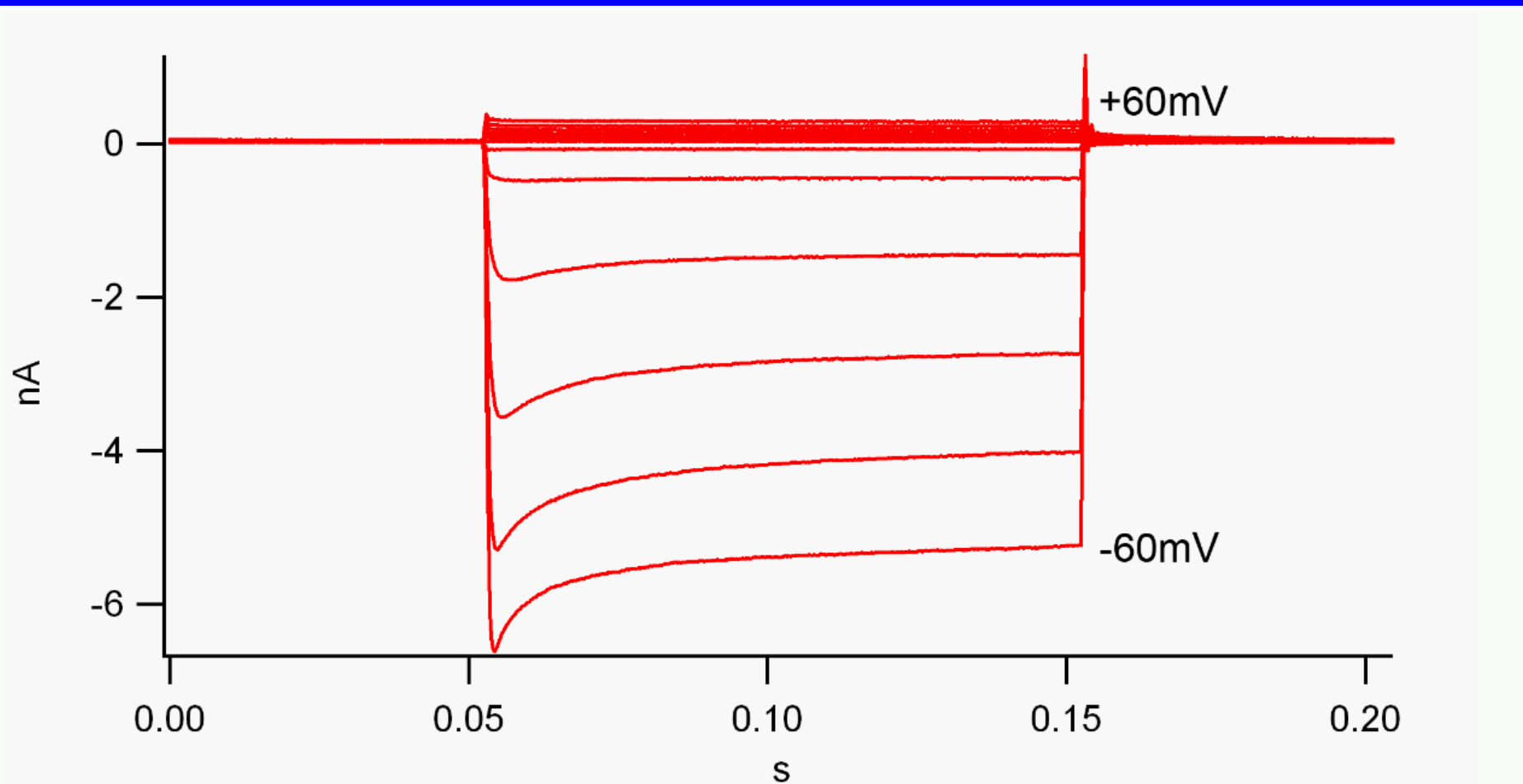




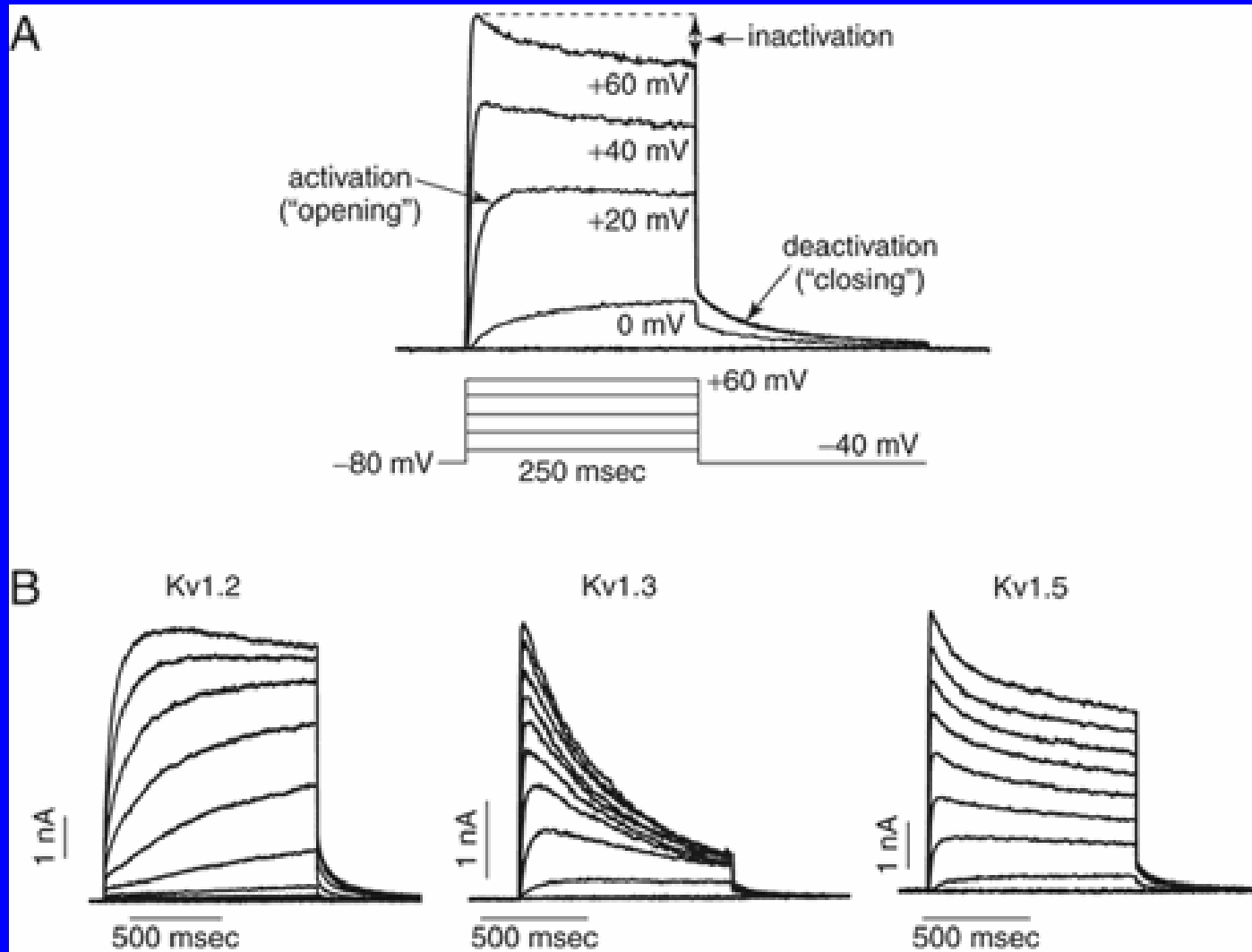
# Kinetické schéma vápníkem stimulovaného draslíkového kanálu



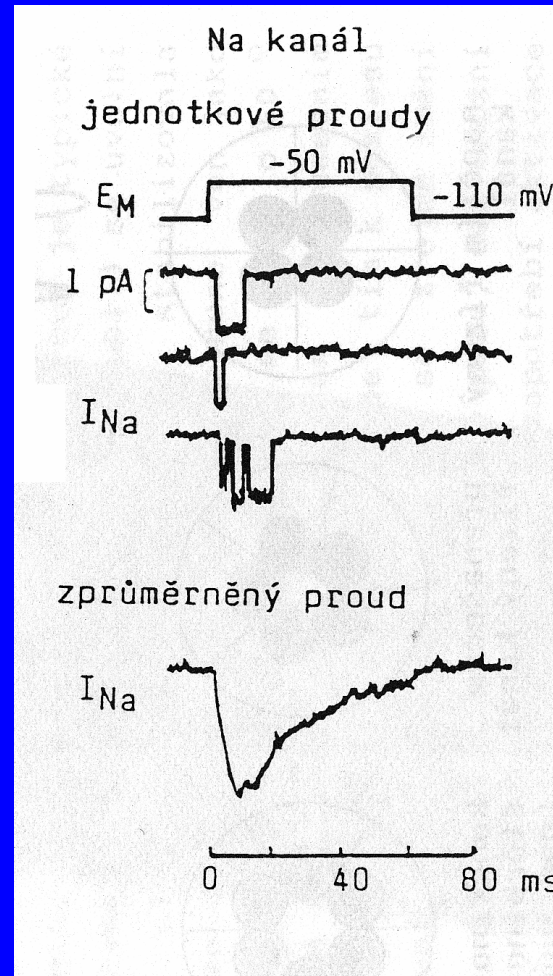
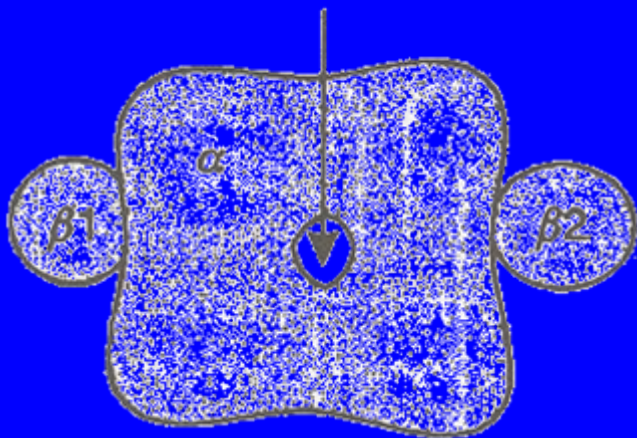
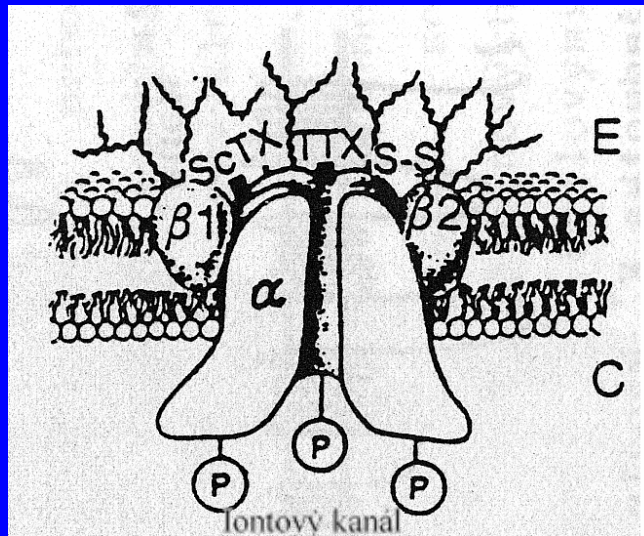
# Napět'ová závislost kanálů Kir



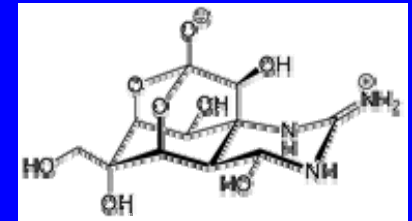
# Napět'ová závislost kanálů Kv



# Sodíkové iontové kanály



tetrodotoxin

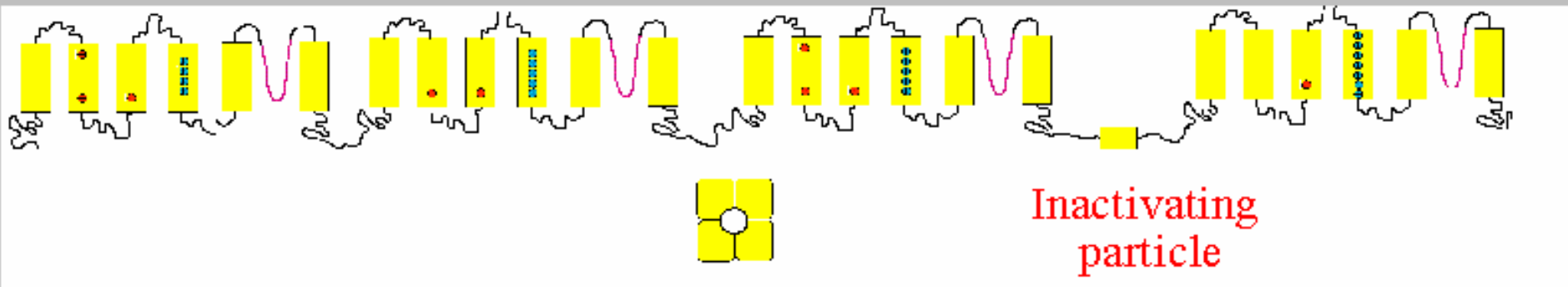


D I

D II

D III

D IV



Na channel alpha subunit





# Teplotou aktivované kanály

T<sub>r</sub>ansient R<sub>e</sub>ceptor P<sub>o</sub>tential

**TRPV1**  
**T > 43°C**  
**capsaicin**

**TRPM8**  
**T < 22°C**  
**mentol**

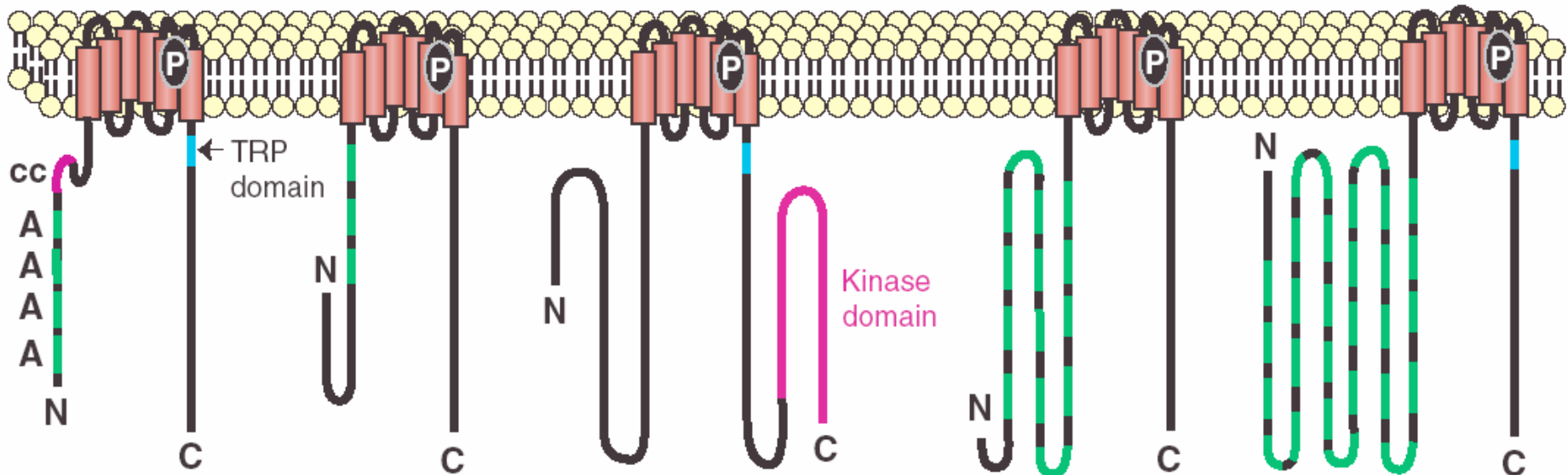
**TRPC**

**TRPV**

**TRPM**

**TRPA**

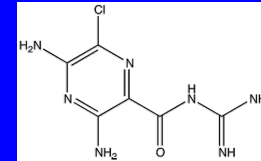
**TRPN**



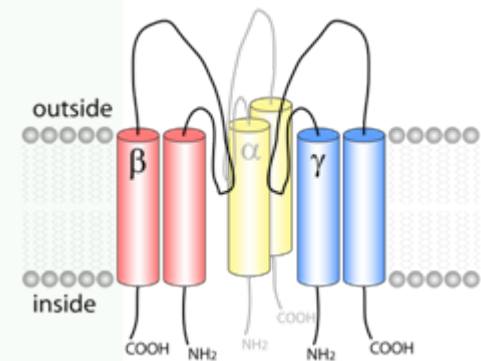
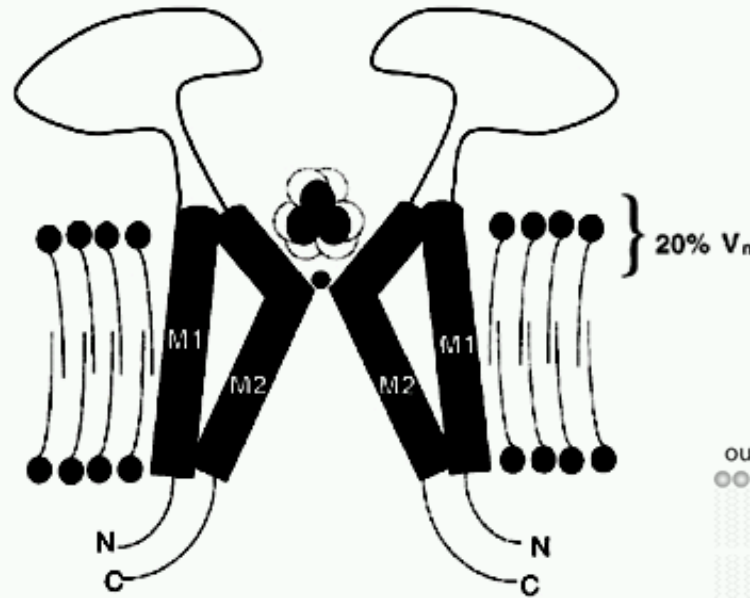
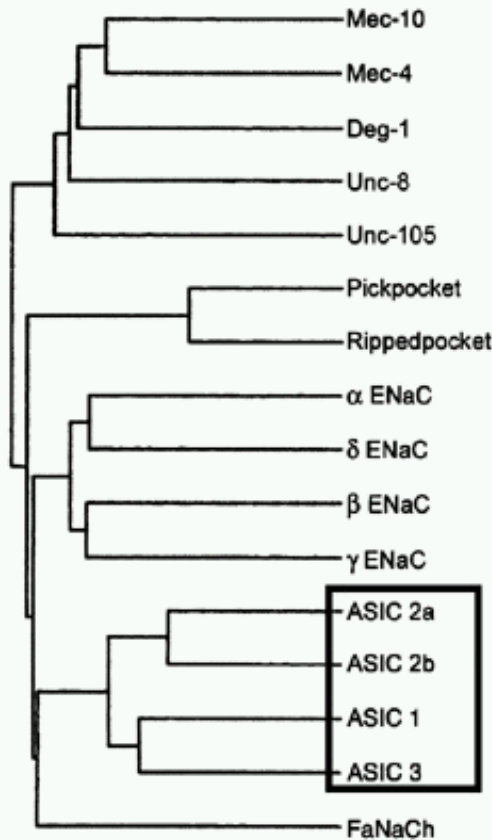
# Epiteliální sodíkové kanály a kanály

trimerní aktivované kyselým prostředím

ENaC -inhibované amiloridem



Podílejí se na anoxické depolarizaci mozku při ischemii



# Vápníkové kanály

- Vysoká selektivita pro vápník
- Vstup vápníku do buňky:
  - svalový stah
  - výlev neuropřenašečů
  - druhý posel v buňce

# Dělení

## Podle závislosti na napětí











- HVA- aktivované velkou depolarizací
- Inhibice dihydropyridiny (DHP receptory)
- LVA- aktivované malou depolarizací

## Podle rychlosti aktivace a inaktivace

- T- přechodné (tiny, transient)
- L- dlouhodobé (large, long)

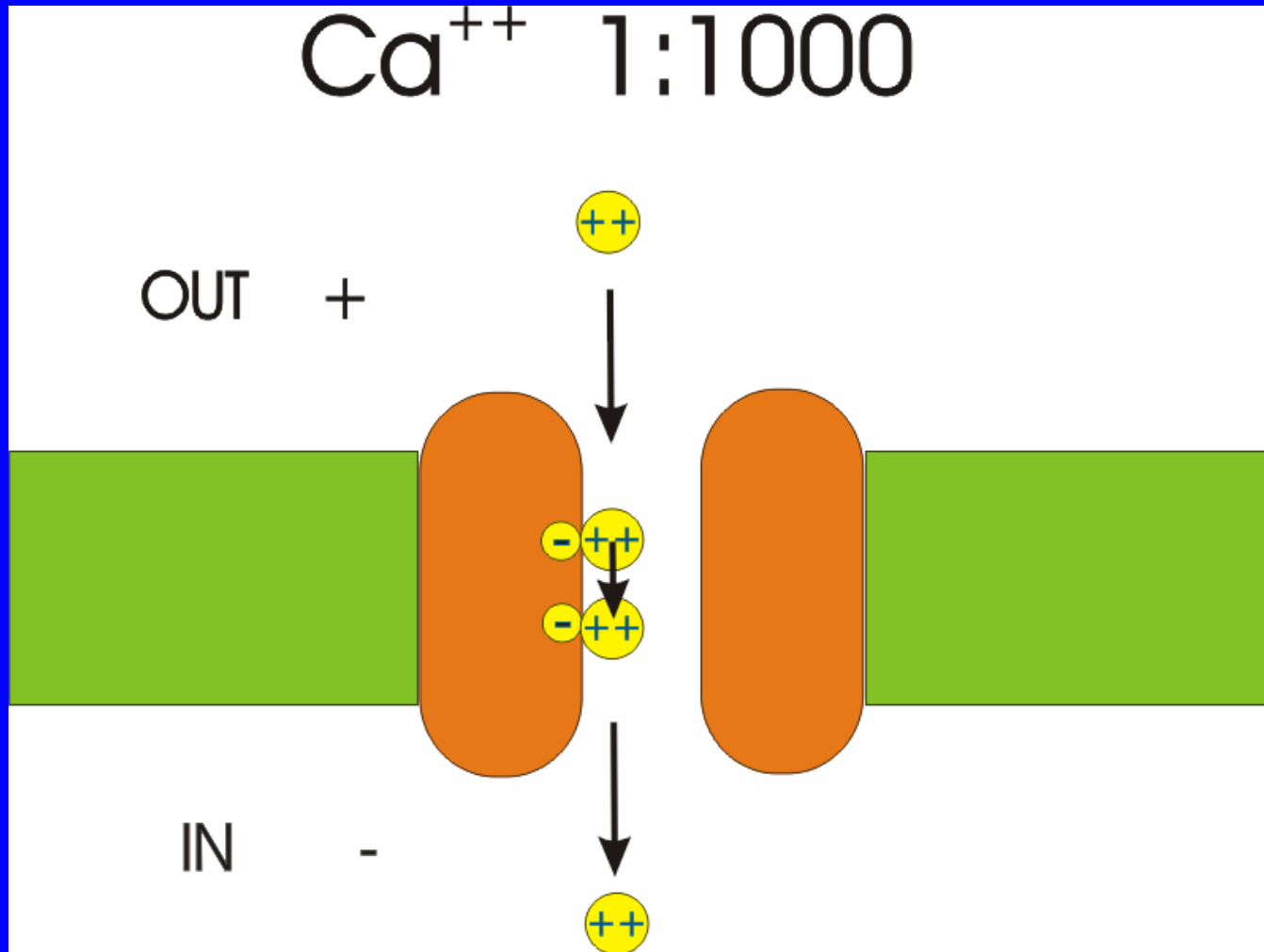
## Podle citlivosti k toxinům

- N- neuronální citlivé k  $\omega$ -conotoxinu GVIA
- P/Q- citlivé k  $\omega$ -agatoxinu IVA
- R- rezistentní k toxinům

Type	Gated by	Protein	Gene
L-type	high voltage	Ca <sub>v</sub> 1.1 Ca <sub>v</sub> 1.2 Ca <sub>v</sub> 1.3 Ca <sub>v</sub> 1.4	<a href="#">CACNA1S</a>  <a href="#">CACNA1C</a>  <a href="#">CACNA1D</a>  <a href="#">CACNA1F</a> 
P-type/Q-type	high voltage	Ca <sub>v</sub> 2.1	<a href="#">CACNA1A</a> 
N-type	high voltage	Ca <sub>v</sub> 2.2	<a href="#">CACNA1B</a> 
R-type	intermediate voltage	Ca <sub>v</sub> 2.3	<a href="#">CACNA1E</a> 
T-type	low voltage	Ca <sub>v</sub> 3.1 Ca <sub>v</sub> 3.2 Ca <sub>v</sub> 3.3	<a href="#">CACNA1G</a>  <a href="#">CACNA1H</a>  <a href="#">CACNA1I</a> 



# Selektivita vápníkových kanálů

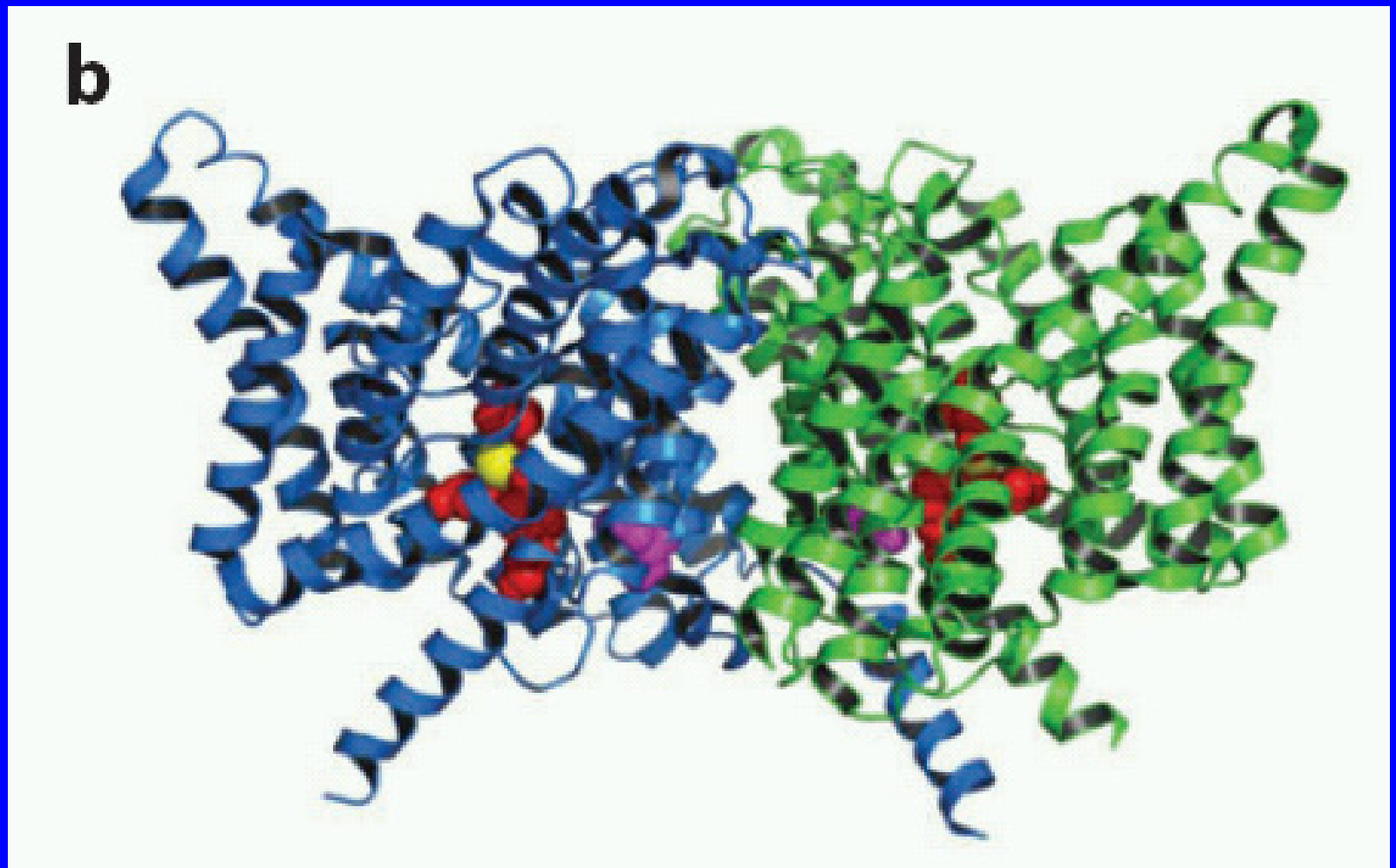


# Chloridové kanály

- Nejsou příbuzné s předchozími skupinami
- Heterogenní skupina
- Stabilizace membránového potenciálu
- Regulace objemu buňky
- Regulace transportu v epiteliálních buňkách
- ClC - napětím aktivované
- CFTR - cAMP aktivovaný
- CLIC1 intracelulární kanál
- TMEM16/anoctamin -  $\text{Ca}^{2+}$  aktivovaný
- Bestrophin -  $\text{Ca}^{2+}$  aktivovaný (změnami objemu ?)



# Kanál ClC je tvořen dimerem



# Kanálopatie

Choroby nebo poruchy způsobené poruchou funkce nebo exprese iontových kanálů.

Poruchy mohou být podmíněny dědičně – mutace v kanálech (jsou mnohem vzácnější než mutace ve strukturních proteinech).

Autoimunitní choroby

Kanálopatie mohou postihovat nervovou soustavu, svaly, epitelu .....

# Dědičné poruchy spojené s epileptickými syndromy

Různé mutace neuronálního nikotinového receptoru  $\alpha 4\beta 2$

Dědičný epileptický syndromu ADNFLE (autosomal dominant nocturnal frontal lobe epilepsy)

GABA<sub>A</sub> receptor (mutace v různých podjednotkách)  
- dětská epilepsie - absence

Ztrátové mutace sodíkových, draslíkových a vápníkových kanálů a získové mutace chloridových kanálů také vyvolávají epileptické syndromy



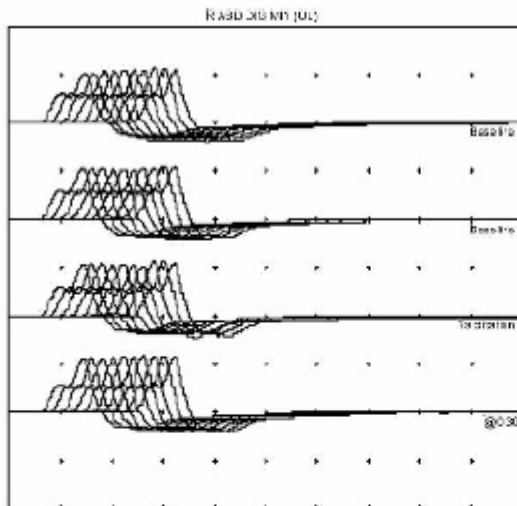
# Myasthenia gravis

- Autoprotilátky proti nikotinovému receptoru v postsynaptické membráně nervosvalového zakončení vyvolávají postupný úbytek funkčních receptorů.
- Z presynaptického zakončení vylitý acetylcholin aktivuje postsynapticky jen malý počet receptorů, které nestačí ke stimulaci svalového vlákna. Následkem je svalová slabost a život ohrožující ochrnutí dýchacích svalů.

# EMG projevy myasthenie

(autoprotilátky proti postsynaptickému nikotinovému receptoru)

Projevuje se vyčerpáním po opakované stimulaci a návratem funkce po odpočinku

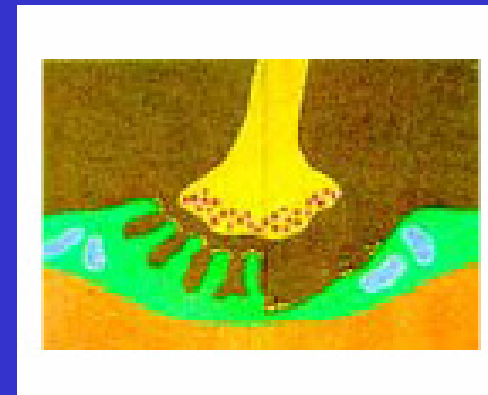
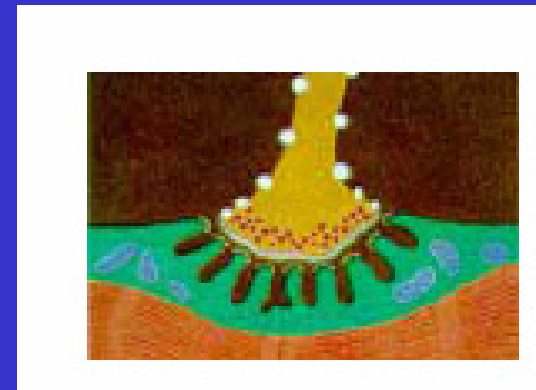
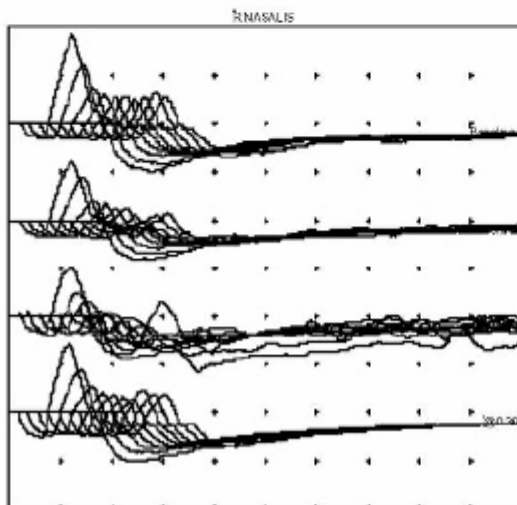


Pre-exercise

Immediately post-exercise

1 min post-exercise

2 min post-exercise



# Dědičné poruchy podobné myasthenii

60 různých mutací na různých místech nikotinového receptoru

Snížení funkce - nízká exprese receptoru nebo kratší doba otevření kanálu.

Zvýšená funkce - prodloužená doba otevření kanálu (slow-channel mutation), zvýšený výskyt spontánních otevření.

Podobné projevy mají ale i genetické poruchy cholin acetyltransferázy a acetylcholinesterázy

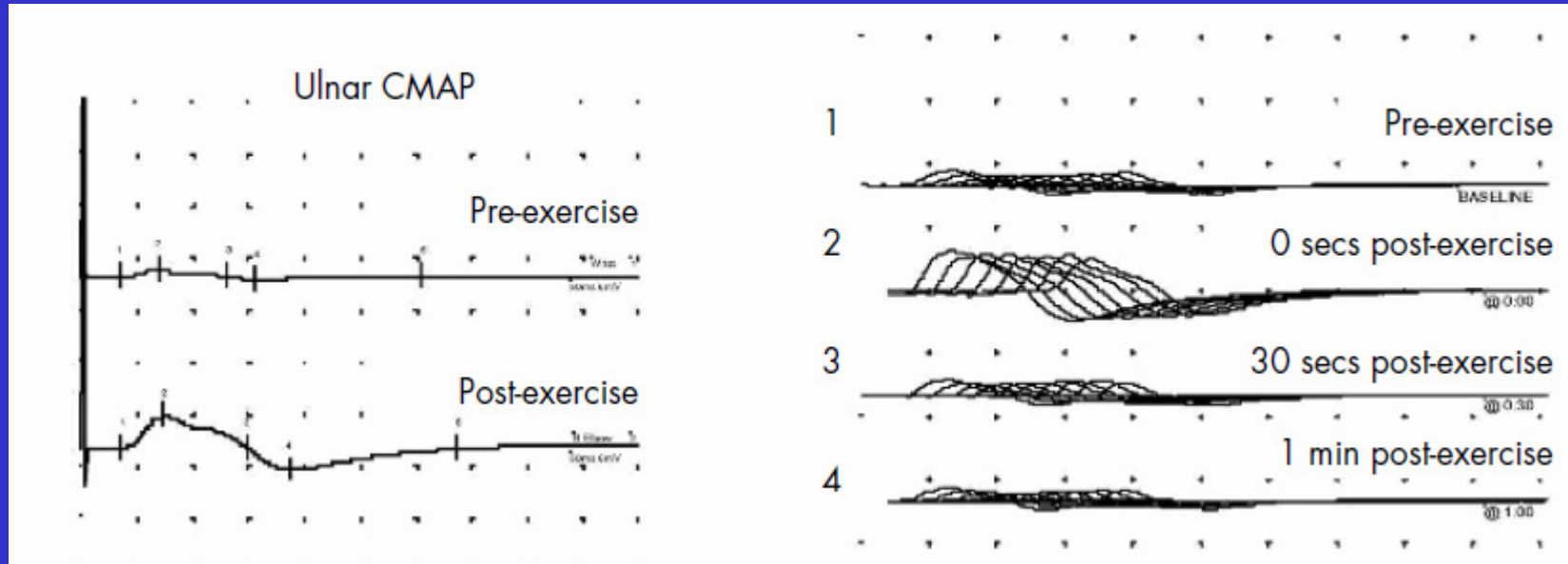
# Lambert-Eatonův myasthenický syndrom

- Autoprotilátky proti vápníkovým kanálům v synaptickém zakončení vedou k nedostatečnému výlevu neurotransmiteru acetylcholinu - vzniká svalová slabost

# EMG projev Lambert-Eatonova syndromu

(autoprotiřátky proti presynaptickým vápníkovým kanálům)

Cvičení nebo vysokofrekvenční stimulace vyvolá krátkodobou facilitaci



# Myotonia congenita

- ClC kanály se ve svalových buňkách podílejí na stabilitě negativního membránového potenciálu (v cytoplasmě svalových buněk je relativně málo chloridových iontů)
- Při absenci ClC kanálů ve svalech vzniká po normální synaptické stimulaci celá série akčních potenciálů místo jediného.
- Vzniká tonický stah vláken



CNG kanály - achromatopsie

Ca<sub>v</sub> 1.4 - noční slepota

K<sub>v</sub> 7.4 a Kir 4.1 - hluchota

TRPV4 - kongenitální spinální svalová atrofie

K<sub>v</sub>7.2, Na<sub>v</sub>2.1, Na<sub>v</sub>1.6, K<sub>Ca</sub>4.1 - různé formy  
encefalopatie

K<sub>v</sub>1.1, K<sub>v</sub>3.3, Ca<sub>v</sub>2.1, Ca<sub>v</sub>β1 - různé formy ataxie

Ca<sub>v</sub>2.1 , Na<sub>v</sub>1.1 - dědičné hemiplegické migrény

Porucha glycinového receptoru - hyperekplexie -  
výrazná úleková reakce u dětí

# Na<sub>v</sub>1.5 (gen SCN5A)

- Myotonická dystrofie - geneticky podmíněný defekt v sodíkovém kanálu Na<sub>v</sub>1.5 v srdečním svalu
- Brugada syndrom - fibrilace srdce způsobená změnou napěťovou citlivostí sodného kanálu (zrychlený návrat z inaktivace?)
- Long QT syndrom - inaktivace kanálu bez otevření (mutace R1623Q)

# Na<sub>v</sub> 1.4 (gen SCN4A)

- V kosterním svalu
- Myotonie
- Periodická paralýza

# Mutace ENaC

- Ztráta funkce v ledvinách - hypotense
- Podobné účinky má ztráta funkce dovnitř usměrňujícího kanálu Kir 1.1 a chloridového kanálu ClCKb
- Zvýšená činnost ENaC v ledvinách - hypertense

# Cystická fibróza

Dědičný defekt v genu pro CFTR chloridový kanál.

Stačí jedna funkční kopie - autosomálně recesivní choroba (1:25 nosič, 1:3000 postižených)

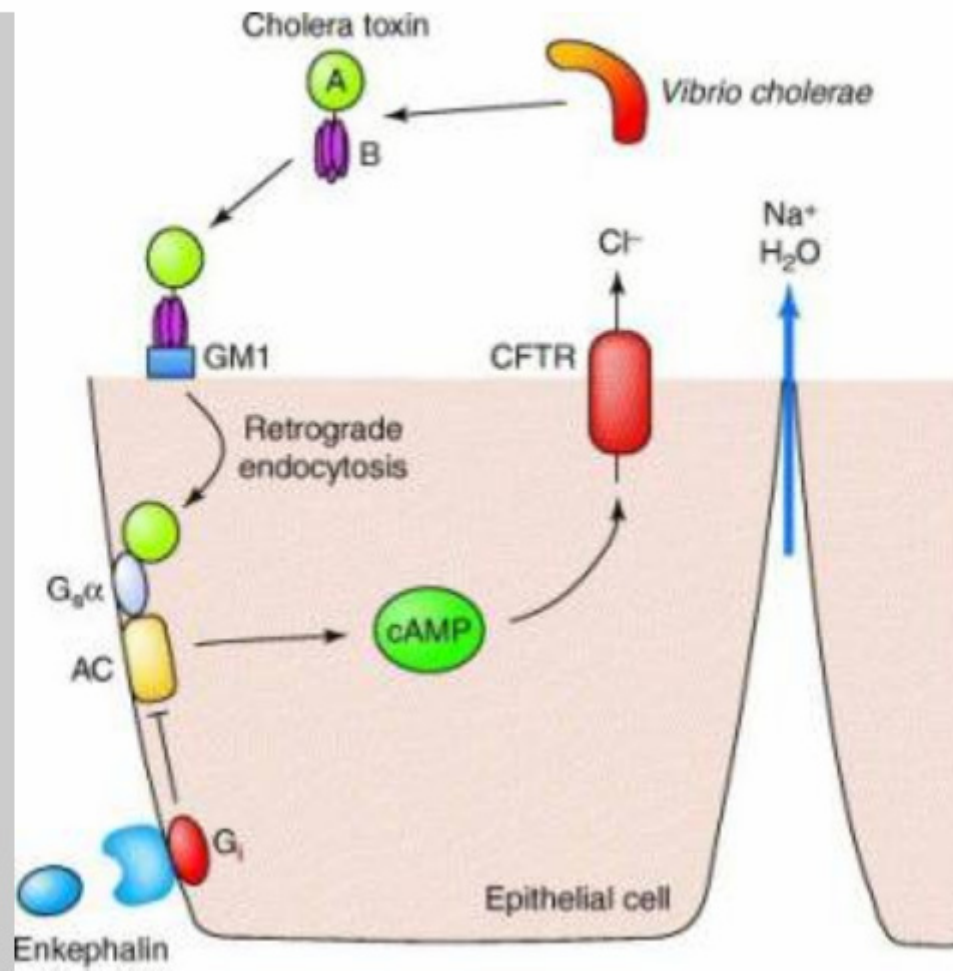
Nejčastější je mutace  $\Delta F508$  (chybí fenylalanin 508).

Různě vážných mutací bylo popsáno několik tisíc.

Nefunkční nebo málo fungující chloridový kanál omezuje výtok chloridů na epitelech a v důsledku toho i výtok vody, vznikající hlen je hustý, hromadí se a to vede k zánětům.

# Hypotéza částečné ochrany nositelů poškozeného CFTR kanálu při průjmových onemocněních

## Cholera Toxin



Databáze s aktualizovanými informacemi o  
iontových kanálech

<http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/ReceptorFamiliesForward?type=IC>

<http://lenoverelab.org/LGICdb/LGICdb.php>