

МИХАИЛ ГУРЬЕВ
КАНАЛЫ И КАНАЛОПАТИИ

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ

ЧАСТЬ 1

Мутации в этих каналах могут приводить к нарушению клеточных функций во многих органах: аритмиям, патологиям сетчатки, периодическому параличу и сахарному диабету

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ ЧАСТЬ 1

Автор: Михаил Гурьев
Редакция: Елена Бреславец
Оформление: Никита Родионов
Верстка: Cornu Ammonis

Веб-версия от 19.10.2019

ВВЕДЕНИЕ

В 1949 году Бернард Катц зарегистрировал в скелетных мышцах калиевый ток [1], который резко отличался от известного на тот момент калиевого тока в гигантском аксоне кальмара. Оказалось, что его амплитуда выше при значениях мембранного потенциала, отрицательных по отношению к равновесному потенциалу для калия (E_K), чем при положительных (основы электрофизиологии кратко изложены в статье «Мембранный потенциал»).

Предпочтительное проведение тока только в одном направлении по аналогии с термином в электротехнике называют выпрямлением, а так как эти каналы пропускают преимущественно входящий ионный ток, их назвали калиевыми каналами внутреннего выпрямления, или Kir (*inward rectifying K⁺-channels*). Поскольку при физиологических концентрациях калия внутри и вне клетки уравнение Гольдмана — Ходжкина — Катца для тока предсказывает слабое внешнее выпрямление (рис. 1), эти каналы поначалу были описаны как каналы «аномального» выпрямления.

В физиологических условиях каналы Kir пропускают высокоамплитудный ток, когда мембрана гиперполяризована, и малоактивны при ее деполяризации. Эти каналы можно сравнить с диодами, проводящими ток в одном направлении. При высоком уровне экспрессии калиевых каналов внутреннего выпрямления потенциал покоя клеток будет близким к E_K и в них не будет наблюдаться спонтанная электрическая активность.

Таким образом, электрофизиологические характеристики каналов Kir определяют их роль в поддержании потенциала покоя и регуляции возбудимости клеток. Мутации этих каналов могут приводить к патологии многих органов: аритмиям, заболеваниям сетчатки, периодическому параличу и сахарному диабету.

СТРУКТУРА КАНАЛОВ СЕМЕЙСТВА KIR

Первичная структура калиевых каналов внутреннего выпрямления стала известна в 1993 году, когда были клонированы первые три представителя семейства Kir: классический IRK1/Kir2.1 [2], АТФ-зависимый ROMK1/Kir1.1 [3] и активируемый G-белками GIRK1/Kir3.1 [4].

Как можно установить соответствие между ионным током и геном, кодирующим ионный канал? Рассмотрим, как в своей работе К. Хо с коллегами клонировали первый канал этого семейства [3]. Сначала исследователи выделили полиаденилированную РНК из внутренней полоски мозгового вещества почки крысы и инъектировали ее в ооциты лягушки *Xenopus laevis*. В ооцитах, экспрессирующих эту РНК, методом фиксации потенциала с помощью двух электродов (описание метода см. в статье «Мембранный потенциал»)

можно зарегистрировать калиевый ток внутреннего выпрямления, отсутствующий в контрольных ооцитах, в которые ввели воду. Далее исследователи фракционировали использованную ранее тотальную РНК и инъектировали в ооциты получившиеся отдельные фракции. Таким образом они определили, что интересующий их транскрипт оказался в диапазоне 2–3 килобаз, и изготовили из этой фракции библиотеку комплементарной ДНК (кДНК). На основе клонов из библиотеки методом транскрипции *in vitro* была получена кРНК, которую затем экспрессировали в ооцитах лягушки. В итоге ученые обнаружили кРНК и, соответственно, кДНК длиной 2,1 килобаз, которая при экспрессии в оо-

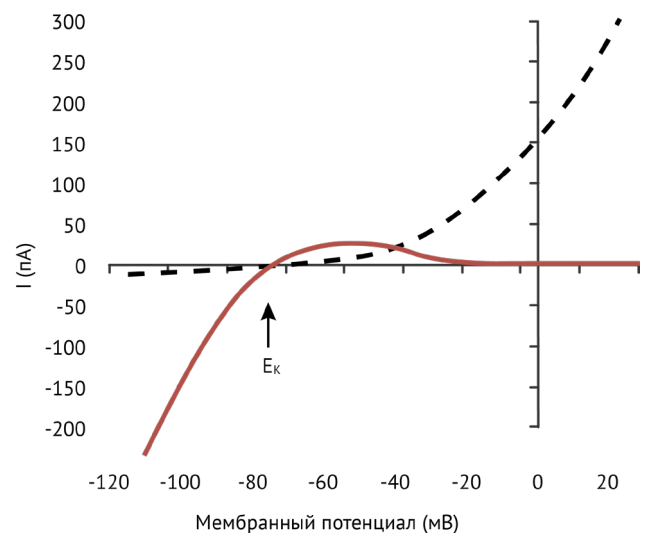


Рисунок 1 | Зависимость силы тока от потенциала на мембране для каналов внутреннего (красная сплошная линия) и внешнего выпрямления (черная пунктирная линия). E_K — равновесный потенциал для K^+ .

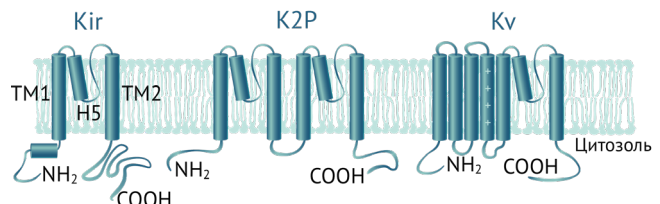


Рисунок 2 | Доменная организация калиевых каналов различных семейств: калиевых каналов внутреннего выпрямления (Kir), калиевых каналов с двумя поровыми доменами (K2P) и потенциал-зависимых калиевых каналов (Kv).

Субъединица Kir состоит из двух альфа-спиралей, пересекающих мембрану, NH_2 - и $COOH$ - концы обращены в цитозоль. Между трансмембранными спиральями находится петля, образующая селективный фильтр канала. Селективный фильтр всех калиевых каналов устроен по единому принципу и обеспечивает их высокую избирательность.

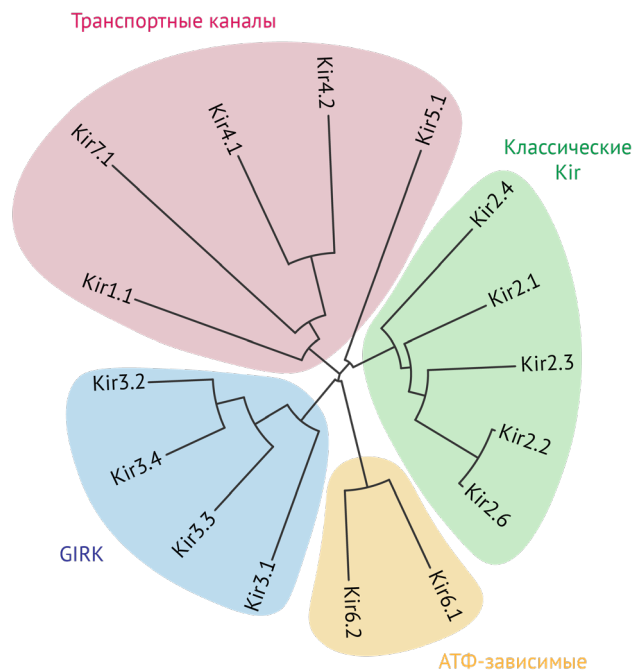


Рисунок 3 | Филогенетическое древо аминокислотных последовательностей калиевых каналов внутреннего выпрямления.

Таблица 1 | Семейство генов калиевых каналов внутреннего выпрямления [6].

Название	Синонимы	Хромосомный локус
<i>KCNJ1</i> (potassium voltage-gated channel subfamily J member 1)	Kir1.1, ROMK1	11q24.3
<i>KCNJ2</i>	Kir2.1, IRK1, LQT7	17q24.3
<i>KCNJ3</i>	Kir3.1, GIRK1, KGA	2q24.1
<i>KCNJ4</i>	Kir2.3, HIR, HRK1, hIRK2, IRK3	22q13.1
<i>KCNJ5</i>	Kir3.4, CIR, KATP1, GIRK4, LQT13	11q24.3
<i>KCNJ6</i>	Kir3.2, GIRK2, KATP2, BIR1, hiGIRK2	21q22.13
<i>KCNJ8</i>	Kir6.1	12p12.1
<i>KCNJ9</i>	Kir3.3, GIRK3	1q23.2
<i>KCNJ10</i>	Kir4.1, Kir1.2	1q23.2
<i>KCNJ11</i>	Kir6.2, BIR	11p15.1
<i>KCNJ12</i>	Kir2.2, Kir2.2v, IRK2, hIRK1	17p11.2
<i>KCNJ13</i>	Kir7.1, Kir1.4, LCA16	2q37.1
<i>KCNJ14</i>	Kir2.4, IRK4	19q13.33
<i>KCNJ15</i>	Kir4.2, Kir1.3, IRKK	21q22.13-q22.2
<i>KCNJ16</i>	Kir5.1, BIR9	17q24.3
<i>KCNJ18</i>	KIR2.6, TTPP2	17p11.2
<i>ABCC8</i> (ATP-binding cassette, subfamily C (CFTR/ MRP), member 8)	SUR1	11p15.1
<i>ABCC9</i>	SUR2	12p12.1

цитах давала ток внутреннего выпрямления, блокируемый ионами Ba^{2+} . Этот транскрипт назвали ROMK1 (*renal outer medulla K channel 1*). Затем кДНК секвенировали и таким образом определили первичную структуру канала.

Функциональный калиевый канал внутреннего выпрямления представляет собой гомо- или гетеротетрамер из Kir субъединиц. Базовая архитектура всех субъединиц Kir одинакова: NH_2 - и $COOH$ -концы белка находятся в цитозоле, а трансмембранная часть состоит из двух трансмембранных доменов (TM1 и TM2) и порообразующего домена H5 между ними (см. рис. 2). Домен H5 служит селективным фильтром и содержит последовательность T-X-G-Y(F)-G, общую для всех семейств калиевых каналов. В отличие от потенциал-зависимых калиевых, натриевых и кальциевых каналов (K_v , Na_v и Ca_v), у Kir отсутствует чувствительный к мембранному потенциалу домен S4 и поэтому они открыты при любых значениях мембранного потенциала [5], если соблюдены другие условия открытия канала, например, низкий уровень АТФ для K_{ATP} каналов.

В настоящее время известно 16 генов субъединиц Kir каналов, которые группируют в семь подсемейств (Kir1.x–Kir7.x) на основании сходства структуры. Функционально их можно разделить на четыре группы:

- классические Kir (Kir2.x);
- транспортные каналы (Kir1.x, Kir4.x, Kir5.x и Kir7.x);
- каналы, активируемые G-белками (Kir3.x), также называемые GIRK (*G protein-coupled inwardly-rectifying K⁺ channels*);
- АТФ-чувствительные K^+ -каналы (Kir6.x) — K_{ATP} каналы.

Каналы семейства Kir могут образовывать как гомомеры, так и гетеромеры из четырех субъединиц, обычно в рамках одного подсемейства (за исключением Kir4.1/Kir5.1). Гетеромеризация влияет на электрофизиологические и фармакологические свойства каналов, а также на их внутриклеточную локализацию, тем самым расширяя функциональные возможности.

МЕХАНИЗМЫ РАБОТЫ И РЕГУЛЯЦИИ КАНАЛОВ KIR

Внеклеточная концентрация K^+ и Na^+

При увеличении внеклеточной концентрации калия проводимость большинства калиевых каналов внутреннего выпрямления (кроме Kir7.1 [7]) квадратично возрастает [2, 8]. Такое поведение обуславливает парадоксальную гиперполяризацию мембраны гладкомышечных клеток в ответ на умеренное повышение уровня K^+ . Однако в исследовании 2018 года предложено иное объяснение этому эффекту: активность канала зависит не от концентрации калия, а от конкуренции между внеклеточным калием и натрием, который блокирует пору канала снаружи [9].

Внутриклеточные поливалентные катионы

Внутреннее выпрямление — отличительная характеристика каналов Kir — обусловлено блоком выходящего тока калия внутриклеточными дивалентными катионами, такими как Mg^{2+} [10], и полиаминами (спермин, спермидин, путресцин и кадаверин) [11].

Когда мембрана гиперполяризована, ионы K^+ свободно проходят через пору канала. Однако при деполяризации мембраны катионы под действием электрического поля поступают из цитоплазмы в пору и блокируют проход для ионов K^+ . Этот механизм позволяет каналам Kir поддерживать потенциал покоя и не рассеивать электрохимический градиент при генерации потенциала действия.

В случае возникновения гиперполяризации снятие блокировки канала происходит в две ступени: сначала диссоциирует ион Mg^{2+} , а через некоторое время благодаря диссоциации полиаминов выпрямление тока усиливается.

Степень выраженности внутреннего выпрямления различается для разных подсемейств Kir. По характеру выпрямления выделяют «сильно-» (Kir2.x и Kir3.x), «средне-» (Kir4.x) и «слабовыпрямляющие» (Kir1.1 и Kir6.x) каналы. В основе молекулярного механизма блока канала внутриклеточными поливалентными катионами лежат несколько отрицательно заряженных аминокислотных остатков в цитоплазматической части поры канала. Остаток аспартата Asp172 в Kir2.1 отвечает за высокую аффинность этого канала к магнию и сильное выпрямление, тогда как в Kir1.1 соответствующий остаток аспарагина Asn171 не заряжен. Мутация Asn171Asp (нейтральная аминокислота заменяется на кислую) увеличивает аффинность Kir1.1 к Mg^{2+} и, соответственно, внутреннее выпрямление этого канала [12]. Другие отрицательно заряженные остатки в цитоплазматической части поры и вестибулуме канала отвечают за медленный блок полиаминами [13].

Фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (PIP₂)

Долгое время мембранные фосфолипиды считались инертной средой, в которую погружены ионные каналы, однако за последние десятилетия стало ясно, что фосфолипиды активно участвуют в регуляции активности ионных каналов [14].

Анионный фосфолипид плазматической мембраны фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат (PtdIns(4,5)P₂, или PIP₂) необходим для нормальной работы большинства каналов Kir [15–17]. PIP₂ связывается с положительно заряженными аминокислотными остатками в гибком участке, связывающем С-концевой (цитозольный) и трансмембранный домены молекулы канала, и таким образом активирует канал [18]. В этой роли мембранный фосфолипид PIP₂ принципиально не отличается от растворимых лигандов, активирующих другие ионные каналы, значит, каналы семейства Kir можно считать лиганд-управляемыми [14]. Мутации, нарушающие это взаимодействие, могут быть причиной некоторых заболеваний человека [19]. Например, мутации Kir2.1 в позиции Arg218 (Arg218Gln/Trp) связаны с синдромом Андерсена — Тавила (периодический паралич мускулатуры, удлинение интервала QT и характерные физические особенности) [20], а мутации Kir1.1 в позиции Arg311 (Arg311Gln/Trp) вызывают неонатальный синдром Барттера [21], сопровождающийся излишней экскрецией солей, гипокалиемическим алкалозом и пониженным артериальным давлением (см. раздел «Kir1.1 — синдром Барттера»).

Внутриклеточный и внеклеточный pH

Некоторые представители семейства Kir чувствительны к изменениям кислотности внутри- или внеклеточной среды. Kir1.1 закрываются при закислении цитозоля, а мутации,

сдвигающие рКа к более щелочным значениям, связаны с синдромом Барттера. Гетеромеры Kir4.1/5.1 также закрываются при снижении внутриклеточного pH. Гетеромеры экспрессируются в pH-чувствительных нейронах голубого пятна и, вероятно, опосредуют реакцию на гиперкапнию (см. раздел «Kir4.1 и Kir5.1 в нервной системе»).

KIR2.X — КЛАССИЧЕСКИЕ КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ

Калиевые каналы внутреннего выпрямления в скелетных мышцах и миокарде принадлежат к подсемейству Kir2.x. Каналы этого подсемейства постоянно открыты и обладают сильным внутренним выпрямлением, благодаря чему они поддерживают очень высокий потенциал покоя и долгую фазу плато потенциала действия в кардиомиоцитах и некоторых других типах клеток (см. рис. 4).

К этому подсемейству относятся:

- IRK1/Kir2.1/KCNJ2 [2];
- Kir2.2 (IRK2)/KCNJ12 [22,23];
- Kir2.3 (IRK3, BIR11, HIR)/KCNJ4 [24–26];
- нейрональный Kir2.4 (IRK4)/KCNJ14 [27];
- Kir2.6/KCNJ18 [28], который более, чем на 98 % совпадает с Kir2.2.

Kir2.1, Kir2.2 и Kir2.3 могут образовывать гомо- и гетеротетрамеры в любых комбинациях [29]. Некоторые гетеромерные комбинации встречаются *in vivo*, например, Kir2.1/2.2 и Kir2.1/2.3 в кардиомиоцитах и Kir2.1/2.4 в мозге [30]. Kir2.6 гетеромеризуется с Kir2.1 и Kir2.2 и ограничивает экспрессию этих каналов на мембране клетки, задерживая их в ЭПР [31].

Для нормальной активности каналов Kir2.x необходим PIP₂. Kir2.3 активируется повышением внутри- или внеклеточного pH, за чувствительность к кислотности среды отвечает единственный остаток His117 [32, 33], Kir2.4 также имеет остаток гистидина His130, соответствующий His117 в Kir2.3, и благодаря этому активируется повышением внеклеточного pH.

Физиологическая роль

Kir2.x в сердце

Классические Kir-каналы экспрессируются в кардиомиоцитах предсердий [34], желудочков [35, 36] и волокон Пуркинье [37, 38], но не в клетках пейсмейкеров [39]. Эти каналы пропускают высокоамплитудный входящий ток при E_m , более отрицательном, чем E_K , и относительно большой выходящий ток I_{K1} при E_m чуть ниже E_K , но при удалении значения мембранного потенциала клетки от равновесного потенциала калия ток быстро ослабевает. Такое поведение классического тока внутреннего выпрямления I_{K1} стабилизирует потенциал покоя кардиомиоцитов. Каналы Kir2.x также принимают участие в поддержании деполяризации в фазу плато потенциала действия кардиомиоцитов. При положительных потенциалах I_{K1} практически равен нулю, что не позволяет K^+ преждевременно выходить из клетки и вызывать реполяризацию мембраны. Однако, когда активация потенциалзависимых калиевых каналов запускает реполяризацию и потенциал достигает значений, при которых ток внутреннего выпрямления растет, а не уменьшается при

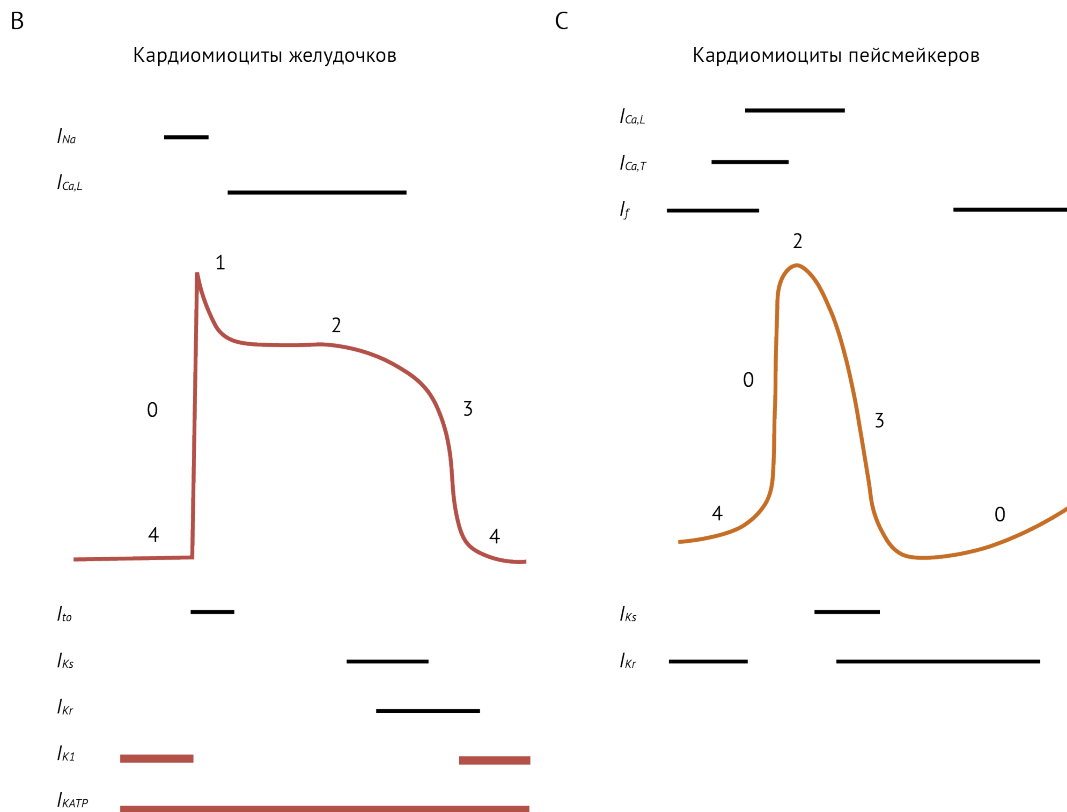
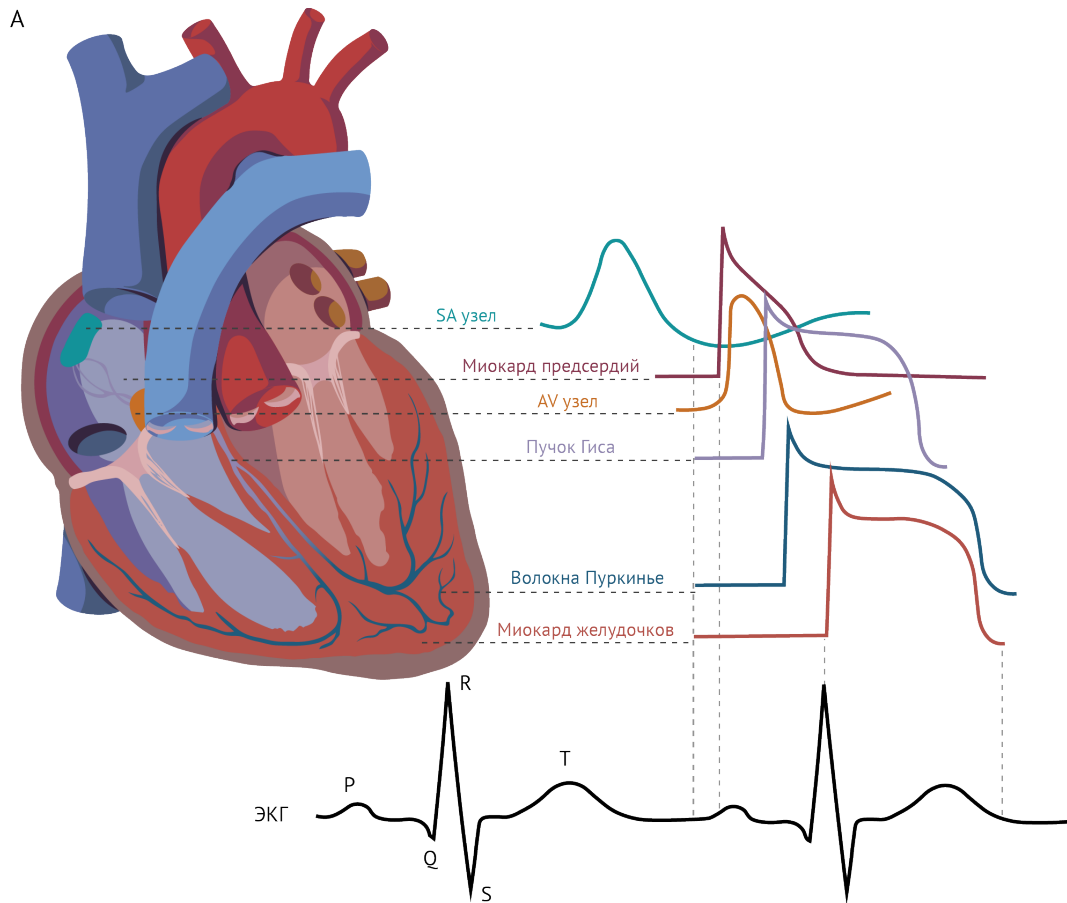


Рисунок 4 | Потенциалы действия в сердце [40].

А. Потенциалы действия в различных отделах сердца.

В и С. Токи, участвующие в формировании потенциала действия в кардиомиоцитах желудочков (В) и пейсмекеров (С).

0 — фаза быстрой деполяризации; 1 — фаза быстрой начальной реполяризации; 2 — фаза плато; 3 — фаза окончательной реполяризации; 4 — потенциал покоя.

Входящие токи (только α -субъединицы каналов): I_{Na} опосредован Nav1.5; $I_{Ca,L}$ — Cav1.2; $I_{Ca,T}$ — Cav3.x;

I_f — HCN (управляемые циклическими нуклеотидами активируемые гиперполяризацией каналы);

Выходящие токи: I_{to} — Kv4.3; быстро активирующийся I_{Kr} — Kv11.1; медленно активирующийся I_{Ks} — Kv7.1, I_{K1} — Kir2.1; I_{KATP} — Kir6.2/SUR2A. Классические каналы Kir отсутствуют в кардиомиоцитах пейсмекеров, из-за чего мембранный потенциал покоя в них нестабилен.

приближении к E_K , высокоамплитудный I_{K1} ускоряет финальную фазу реполяризации и возвращает мембранный потенциал к потенциалу покоя.

Отсутствие классических Kir каналов в клетках пейсмейкеров определяет низкий и нестабильный потенциал покоя этих клеток, а также отсутствие фазы плато в потенциале действия.

Какие именно изоформы Kir2.x опосредуют I_{K1} ? В сердце экспрессируются Kir2.1, Kir2.2 и Kir2.3 [5]. Исследования на нокаутных мышцах показали, что нокаут Kir2.2 ведет к уменьшению амплитуды тока на 50 %, тогда как в кардиомиоцитах нокаута Kir2.1 I_{K1} отсутствовал [41]. Из этого следует, что *in vivo* Kir2.2 образуют гетеромеры с Kir2.1. Экспрессия доминантно негативной формы Kir2.1 или Kir2.2 в желудочковых миоцитах кролика приводила к уменьшению I_{K1} на 70 %, что также свидетельствует о гетеромерных комплексах Kir2.1/Kir2.2 [42].

Фенотип нокаутных мышей, не экспрессирующих Kir2.1, характеризуется нестабильным потенциалом покоя и ритмичными потенциалами действия в желудочковых кардиомиоцитах. Потенциалы действия этих кардиомиоцитов были значительно длиннее, чем у кардиомиоцитов дикого типа. При этом у Kir2.1-нокаутных мышей на ЭКГ отсутствуют эктопические систолы и аритмии обратного входа импульса (англ. *re-entry*), что свидетельствует о нормальной работе синусового узла. Но, несмотря на это, Kir2.1-нокауты умирают уже через 12 часов после рождения из-за нарушений дыхания, так как полная расщелина твердого неба не позволяет этим мышам нормально питаться и содержимое полости рта попадает в трахею, вызывая асфиксию [43], что свидетельствует о важной роли этих каналов в эмбриогенезе.

Kir2.x в кровеносных сосудах

Классические каналы Kir экспрессируются в гладкомышечных клетках и в эндотелии сосудов [44, 45] и участвуют в поддержании сосудистого тонуса.

В клетках гладких мышц резистивных артерий классические Kir-каналы способствуют вазодилатации в ответ на увеличение $[K^+]_o$ (см. рис. 6). Этот механизм особенно важен для мозговых и коронарных артерий. Хотя повышение $[K^+]_o$ обычно приводит к деполяризации и, следовательно, констрикции гладкомышечных клеток, небольшое увеличение $[K^+]_o$ от 6 до 15 мМ гиперполяризует клетку и ведет к расширению мозговых и коронарных артерий. [46–48].

Потенциал покоя гладкомышечных клеток артерий находится на уровне около -45 мВ, а рост $[K^+]_o$ повышает мем-

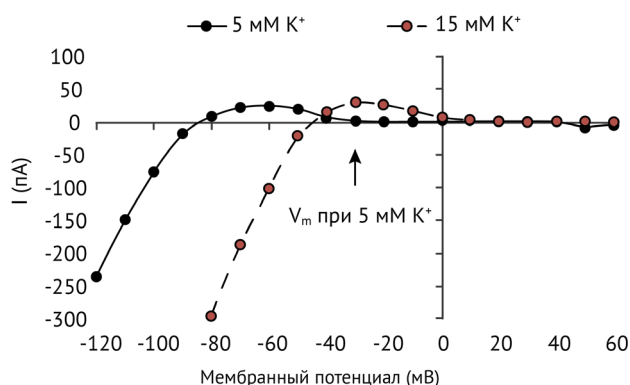


Рисунок 5 | I_{K1} в при 5 и 15 мМ $[K^+]_o$. Повышение $[K^+]_o$ приводит к усилению I_{K1} и сдвигу потенциала покоя в сторону E_K (пояснения в тексте) [51].

бранный потенциал до приблизительно -60 мВ вследствие увеличения проводимости Kir-каналов [46, 48]. При гиперполяризации мембраны потенциал-зависимые кальциевые каналы закрываются и внутриклеточная концентрация Ca^{2+} уменьшается, что ведет к вазодилатации [49].

Вокруг гладкомышечных клеток мозговых артерий концентрация K^+ повышена из-за секреции калия пластинчатыми окончаниями отростков астроцитов. Это локальное увеличение $[K^+]_o$ происходит во время стимуляции нейронов, таким образом, этот механизм участвует в сопряжении активности нейронов и регуляции локального кровотока в мозге [50].

Kir2.1 играет важную роль в вазодилатации в ответ на повышение $[K^+]_o$ в гладкомышечных клетках. В пользу этого свидетельствуют измерения уровня транскриптов Kir2.x в гладкомышечных клетках сосудов, в которых присутствует Kir2.1, а Kir2.2 и Kir2.3 обнаружить не удалось [52], причем уровень экспрессии Kir2.1 и плотность K^+ тока внутреннего выпрямления увеличивается с движением дистально по сосудистому дереву от артерий эластического типа к резистивным артериям [53], которые участвуют в дифференциальной регуляции кровотока различных органов. Кроме того, мозговые артерии Kir2.2-нокаутных мышей, в отличие от сосудов мышей, нокаутных по Kir2.1, нормально расширяются в ответ на повышение внеклеточной концентрации калия [43].

Kir2.1 также участвуют в эндотелий-зависимой вазодилатации. Один из механизмов, показанных для капилляров и артериол мозга, аналогичен гладкомышечному ответу на повышение $[K^+]_o$. В эндотелиальных клетках капилляров мозга, в отличие от эндотелия артериол, отсутствуют кальций-зависимые калиевые каналы малой (обозначаются SK — *small conductance*) и промежуточной проводимости (IK — *intermediate conductance*), а Kir2.1 является главным медиатором калиевого тока. В покое клетки эндотелия деполяризованы (40 мВ), а E_K составляет для них -103 мВ (в цереброспинальной жидкости). Нейроны при генерации потенциалов действия выделяют K^+ , который проходит через астроциты к капиллярам (подробнее о механизмах транспорта K^+ астроцитами см. в разделе «Kir4.1 и Kir5.1 в нервной системе») и активирует ток через Kir2.1-каналы на эндотелии. Увеличение проводимости мембраны для K^+ приближает мембранный потенциал к новому E_K , который будет сдвинут вправо из-за повышения внеклеточного содержания K^+ (см. рис. 5). Гиперполяризация мембраны эндотелия капилляров может распространяться через щелевые контакты вверх по сосудистому дереву к артериолам, вызывая их расширение [54], таким образом кровотока может подстраиваться под текущую потребность ткани (функциональная гиперемия).

Связь между активностью нейронов и кровотоком лежит в основе метода функциональной магнитно-резонансной томографии, и описанный механизм эндотелий-зависимой вазодилатации участвует в генерации BOLD (*blood oxygenation level-dependent* — зависящего от насыщения крови кислородом) сигнала [55, 56]. Роль классических Kir каналов в функциональной гиперемии скелетных мышц и сердца в настоящее время не изучена.

Существуют данные об участии Kir2.x эндотелия артериол в вазодилатации, однако детали этого процесса не ясны. Стимуляция мускариновых рецепторов на клетках эн-

дотелия приводит к повышению цитозольной концентрации Ca^{2+} через активацию IP3R на ЭПР и активацию кальциевых каналов TRPV4 на плазматической мембране, вызванную фосфорилированием PKC. Повышение $[Ca^{2+}]_i$ с одной стороны, стимулирует продукцию эндотелиальных гиперполяризующих факторов (PGI_2 и другие производные арахидоновой кислоты и NO), а, с другой стороны, приводит к активации SK и IK кальций-зависимых калиевых каналов и гиперполяризации эндотелиальных клеток. Ток через Kir2.1 усиливается при гиперполяризации мембраны и способствует дальнейшей гиперполяризации, которая затем распространяется через щелевые контакты на гладкомышечные клетки. Распространение гиперполяризации и вазодилатация чувствительны к блокаде Kir каналов Ba^{2+} , а у мышей с эндотелий-специфичным нокаутом *KCNJ2* была нарушена вазодилатация в мелких брыжеечных артериях [57]. Однако в других исследованиях получены результаты, не согласую-

щиеся с этой моделью. Так, Smith и соавторы не обнаружили экспрессии Kir2.x в брыжеечных артериях крыс и разницы в ответе артерий на аппликацию Ba^{2+} [58].

Некоторые работы связывают роль Kir2.x каналов в вазодилатации в ответ на напряжение сдвига с продукцией NO: так, блок Kir2.x каналов Ba^{2+} предотвращает Ca^{2+} -зависимую продукцию NO и опосредованную им вазодилатацию [59], влияя на уровень фосфорилирования эндотелиальной NO-синтазы eNOS [60], однако события, связывающие активацию каналов Kir и фосфорилирование eNOS, неизвестны. В других работах оспаривается необходимость изменения фосфорилирования eNOS для вазодилатации в ответ на ток крови в случае предварительной констрикции артериол [61].

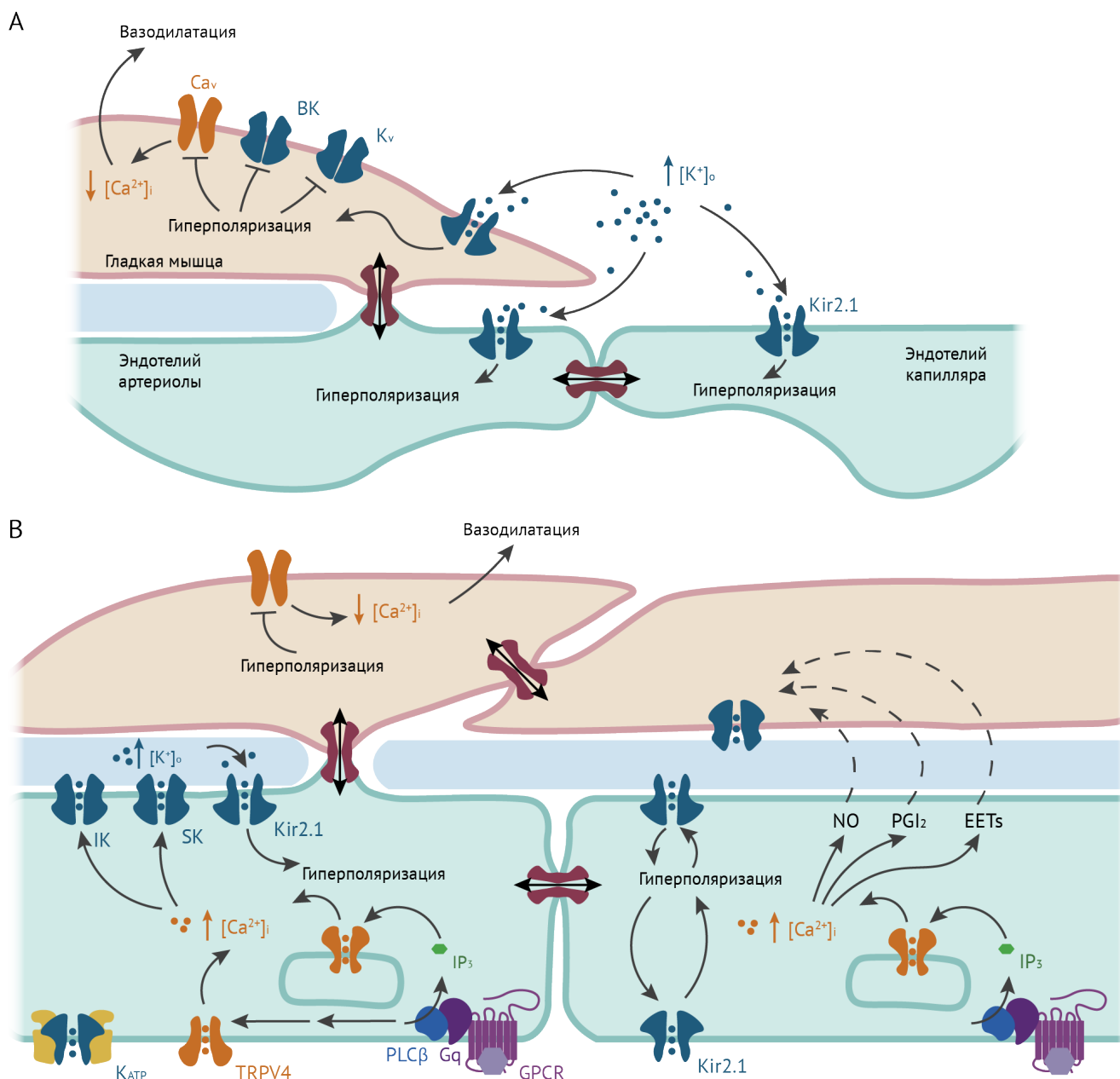


Рисунок 6 | Роль Kir2.1 в гладкомышечных клетках и эндотелии кровеносных сосудов.

А. Активация Kir2.1 на клетках эндотелия и гладких мышц в ответ на повышение $[K^+]_o$ способствует гиперполяризации мембраны, распространяющейся по щелевым контактам, в том числе и вверх по сосудистому дереву [54].

В. Некоторые механизмы эндотелий-зависимой вазодилатации. Повышение $[Ca^{2+}]_i$ стимулирует продукцию эндотелиальных гиперполяризующих факторов (NO, PGI_2 , EETs — эпоксиэйкозатриеновые кислоты). Повышение $[Ca^{2+}]_i$ активирует кальций-зависимые калиевые каналы IK, SK, а Kir2.1 усиливают гиперполяризацию.

Мутации в Kir2.x

Синдром Андерсена — Тавила (LQT7)

Мутации утраты функции в Kir2.1-каналах ведут к синдрому Андерсена — Тавила (LQT7) [20], который наследуется по аутосомно-доминантному типу или возникает *de novo*. Некоторые мутации нарушают взаимодействия с PIP₂, а некоторые — доставку канала на плазматическую мембрану. Для этого синдрома характерны следующие признаки: эпизоды периодического паралича, нарушение сердечного ритма (желудочковые аритмии и удлинение интервала QT) и признаки дисморфогенеза, однако полная триада симптомов встречается редко [62]. Особенности строения лица пациентов с синдромом Андерсена — Тавила и расщелина неба у нокаутных мышей возникают вследствие нарушения сигнального каскада BMP (*bone morphogenic protein*) [63, 64]. На рисунке 7 изображен пациент с типичными для этого синдрома чертами лица.

Синдром короткого интервала QT (SQT3)

Мутации усиления функции в *KCNJ2* могут приводить к синдрому короткого интервала QT (SQT3) [66, 67]. Усиление поступления K⁺ при положительных потенциалах ускоряет реполяризацию, что на ЭКГ выражается в укорочении интервала QT. Морфология сердца при этом остается нормальной, но повышен риск возникновения фибрилляции предсердий и желудочков и внезапной смерти [40, 68].

Тиреотоксический периодический паралич

Мутации утраты функции в гене *KCNJ18*, кодирующем Kir2.6, ведут к тиреотоксическому периодическому параличу [28]. Этот ген экспрессируется в скелетных мышцах, и его транскрипция находится под контролем тиреоидных гормонов. Пациенты испытывают эпизоды паралича и гипокалиемии, причем между этими приступами никакие симптомы не проявляются. Эпизоды прекращаются при компенсации гипертиреоза.

Предполагаемый механизм развития слабости или паралича (рис. 10) включает в себя связывание комплекса рецептора тиреоидных гормонов TRβ и T3 на промоторе гена

KCNJ18 с элементом, чувствительным к тиреоидным гормонам, что приводит к повышению экспрессии этого рецептора. Если повышается экспрессия мутантного варианта с утраченной функцией, амплитуда IK снижается, мембрана деполяризуется и потенциалзависимые натриевые и кальциевые каналы инактивируются. Это приводит к изменению возбудимости мышечных волокон и слабости/параличу. Кроме того, в состоянии тиреотоксикоза повышается активность РКС и снижается уровень PIP₂, что, в свою очередь, также приводит к снижению калиевого тока внутреннего выпрямления.

Интересно, что часть мутаций, выявленных у пациентов с тиреотоксическим периодическим параличом, являются мутациями усиления, а не утраты функции. Так, мутация T354M приводит к незначительному снижению тока в состоянии покоя, однако каналы с этой мутацией не чув-

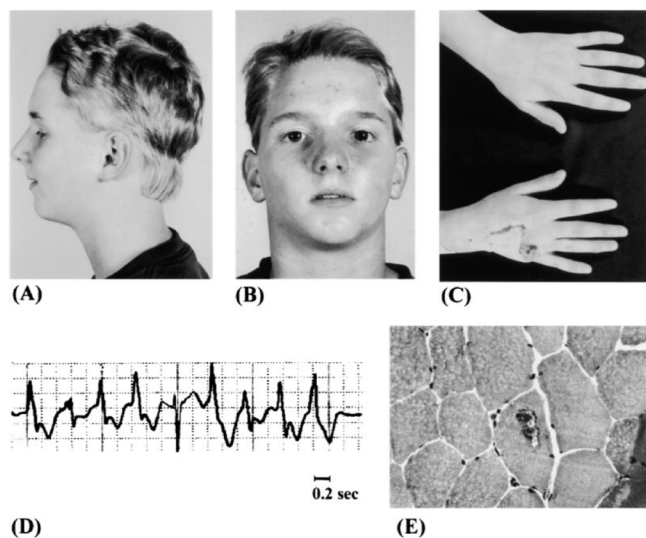


Рисунок 7 | Синдром Андерсена — Тавила.

А, В, С. Типичные черты лица при синдроме Андерсена — Тавила: низко посаженные уши, гипертелоризм, микрогнатия и клинодактилия.
 Д. Полиморфная желудочковая тахикардия на ЭКГ.
 Е. Тубулярные агрегаты на биопсии мышцы [20].

Синдром удлиненного интервала QT

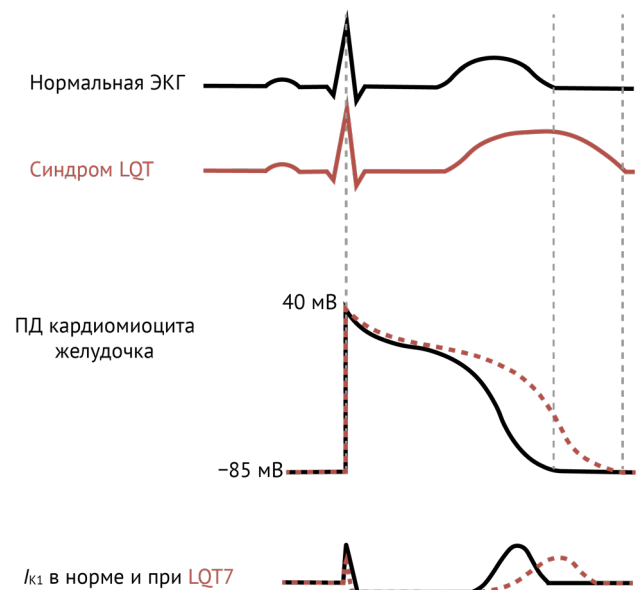


Рисунок 8 | Синдром удлиненного интервала QT.

Синдром короткого интервала QT

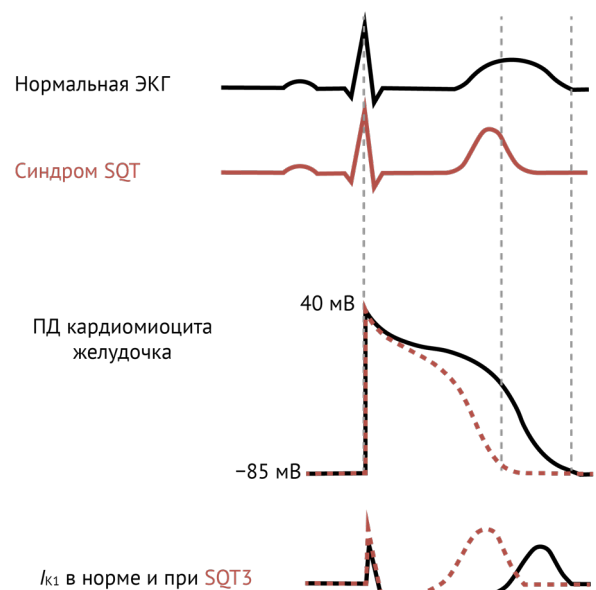


Рисунок 9 | Синдром короткого интервала QT.

ствительны к РКС, которая в норме фосфорилирует канал и снижает вероятность его открытия. В присутствии этой мутации канал остается открытым, и при высокой активности РКС мембрана гиперполяризуется и возбудимость мышечного волокна уменьшается.

В последующем исследовании группа ученых изучила популяции из Китая с болезнью Грейвса и обнаружила и другие варианты, связанные с тиреотоксическим периодическим параличом, в некодирующей области на хромосомном локусе 17q24.3, в котором располагаются гены *KCNJ2* и *KCNJ16*. Поскольку экспрессия *KCNJ16* (Kir5.1) отсутствует в скелетных мышцах, они посчитали *KCNJ2* более подходящим кандидатом [69]. Похожие результаты дало исследование популяции из Таиланда [70].

В следующих частях будут рассмотрены транспортные, активируемые G-белками и АТФ-зависимые калиевые каналы внутреннего выпрямления, а также их фармакологические свойства.

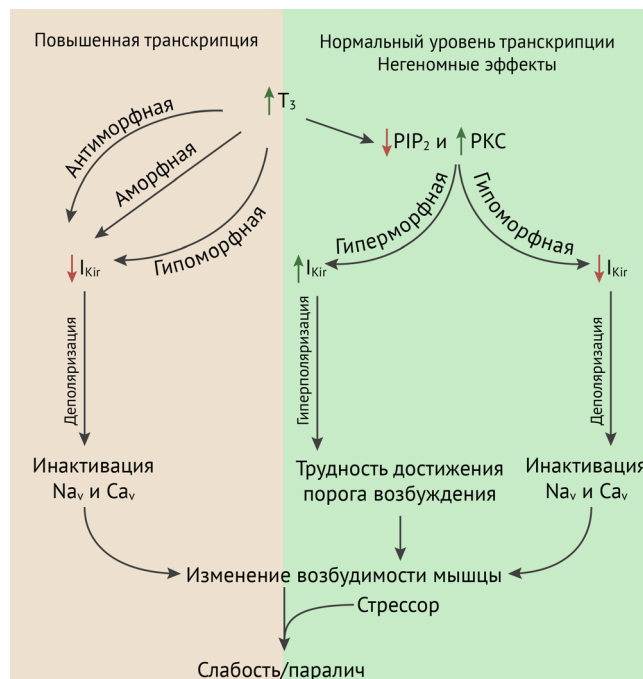


Рисунок 10 | Механизм развития периодического паралича при тиреотоксикозе [28].

Источники:

1. Katz B. Les constantes electriques de la membrane du muscle // Arch. Sci. Physiol. 1949. Vol. 3. P. 285–299.
2. Kubo Y. et al. Primary structure and functional expression of a mouse inward rectifier potassium channel // Nature. 1993. Vol. 362, № 6416. P. 127–133.
3. Ho K. et al. Cloning and expression of an inwardly rectifying ATP-regulated potassium channel // Nature. 1993. Vol. 362, № 6415. P. 31–38.
4. Kubo Y. et al. Primary structure and functional expression of a rat G-protein-coupled muscarinic potassium channel // Nature. 1993. Vol. 364, № 6440. P. 802–806.
5. Hibino H. et al. Inwardly Rectifying Potassium Channels: Their Structure, Function, and Physiological Roles // Physiol. Rev. 2010. Vol. 90, № 1. P. 291–366.
6. Potassium voltage-gated channel subfamily J (KCNJ) Gene Family | HUGO Gene Nomenclature Committee [Electronic resource]. URL: <https://www.genenames.org/cgi-...> (accessed: 04.08.2018).
7. Döring F. et al. The epithelial inward rectifier channel Kir7.1 displays unusual K⁺ permeation properties // J. Neurosci. 1998. Vol. 18, № 21. P. 8625–8636.
8. Lopatin A.N., Nichols C.G. [K⁺] dependence of open-channel conductance in cloned inward rectifier potassium channels (IRK1, Kir2.1) // Biophys. J. Elsevier, 1996. Vol. 71, № 2. P. 682–694.
9. Ishihara K. External K⁺ dependence of strong inward rectifier K⁺ channel conductance is caused not by K⁺ but by competitive pore blockade by external Na⁺ // J. Gen. Physiol. 2018. Vol. 150, № 7. P. 1–14.
10. Matsuda H., Saigusa A., Iriwara H. Ohmic conductance through the inwardly rectifying K channel and blocking by internal Mg²⁺ // Nature. 1987. Vol. 325, № 6100. P. 156–159.
11. Lopatin A.N., Makhina E.N., Nichols C.G. Potassium channel block by cytoplasmic polyamines as the mechanism of intrinsic rectification // Nature. 1994. Vol. 372, № 6504. P. 66–369.
12. Lu Z., MacKinnon R. Electrostatic tuning of Mg²⁺ affinity in an inward-rectifier K⁺ channel // Nature. 1994. Vol. 371, № 6494. P. 243–246.
13. Kurata H.T. et al. The Role of the Cytoplasmic Pore in Inward Rectification of Kir2.1 Channels // J. Gen. Physiol. 2007. Vol. 130, № 2. P. 145–155.
14. Hansen S.B. Lipid agonism: The PIP2 paradigm of ligand-gated ion channels // Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Biol. Lipids. Elsevier B.V., 2015. Vol. 1851, № 5. P. 620–628.
15. Hilgemann D.W., Ball R. Regulation of cardiac Na⁺, Ca²⁺ exchange and KATP Potassium channels by PIP2 // Science. 1996. Vol. 273, № 5277. P. 956–959.
16. Huang C.L., Feng S., Hilgemann D.W. Direct activation of inward rectifier potassium channels by PIP2 and its stabilization by Gβγ // Nature. 1998. Vol. 391, № 6669. P. 803–806.
17. Hilgemann D.W., Feng S., Nasuhoglu C. The Complex and Intriguing Lives of PIP2 with Ion Channels and Transporters // Sci. Signal. 2003. Vol. 2001, № 111. P. re19–re19.
18. Hansen S.B., Tao X., MacKinnon R. Structural basis of PIP2 activation of the classical inward rectifier K⁺ channel Kir2.2 // Nature. 2011. Vol. 477, № 7365. P. 495–498.
19. Lopes C.M.B. et al. Alterations in conserved Kir channel-PIP2 interactions underlie channelopathies // Neuron. 2002. Vol. 34, № 6. P. 933–944.
20. Plaster N.M. et al. Mutations in Kir2.1 cause the developmental and episodic electrical phenotypes of Andersen's syndrome // Cell. 2001. Vol. 105, № 4. P. 511–519.
21. Schulte U. et al. pH gating of ROMK (Kir1.1) channels: control by an Arg-Lys-Arg triad disrupted in antenatal Bartter syndrome // Proc. Natl. Acad. Sci. 1999. Vol. 96, № 26. P. 15298–15303.
22. Koyama H. et al. Molecular cloning, functional expression and localization of a novel inward rectifier potassium channel in the rat brain // FEBS Lett. 1994. Vol. 341, № 2–3. P. 303–307.
23. Fan Z., Makielski J.C. Anionic phospholipids activate ATP-sensitive potassium channels // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272, № 9. P. 5388–5395.
24. Bredt D.S. et al. Cloning and expression of two brain-specific inwardly rectifying potassium channels. // Proc. Natl. Acad. Sci. 1995. Vol. 92, № 15. P. 6753–6757.
25. Morishige K. et al. Molecular cloning and functional expression of a novel brain-specific inward rectifier potassium channel. // FEBS Lett. 1994. Vol. 346, № 2–3. P. 251–256.
26. Makhina E.N. et al. Cloning and expression of a novel human brain inward rectifier potassium channel. // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269, № 32. P. 20468–20474.
27. Töpet C. et al. Kir2.4: a novel K⁺ inward rectifier channel associated with motoneurons of cranial nerve nuclei. // J. Neurosci. 1998. Vol. 18, № 11. P. 4096–4105.
28. Ryan D.P. et al. Mutations in Potassium Channel Kir2.6 Cause Susceptibility to Thyrotoxic Hypokalemic Periodic Paralysis // Cell. 2010. Vol. 140, № 1. P. 88–98.
29. Preisig-Muller R. et al. Heteromerization of Kir2.x potassium channels contributes to the phenotype of Andersen's syndrome // Proc. Natl. Acad. Sci. 2002. Vol. 99, № 11. P. 7774–7779.
30. Schram G. et al. Kir2.4 and Kir2.1 K⁺ channel subunits co-assemble: A potential new contributor to inward rectifier current heterogeneity // J. Physiol. 2002. Vol. 544, № 2. P. 337–349.
31. Dassau L. et al. Kir2.6 Regulates the surface expression of Kir2.x inward rectifier potassium channels // J. Biol. Chem. 2011. Vol. 286, № 11. P. 9526–9541.
32. Coulter K.L. et al. Identification and molecular localization of a pH-sensing domain for the inward rectifier potassium channel HIR // Neuron. 1995. Vol. 15, № 5. P. 1157–1168.
33. Qu Z. et al. Gating of Inward Rectifier K⁺ Channels by Proton-mediated Interactions of N- and C-terminal Domains // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275, № 41. P. 31573–31580.
34. Rougier O., Vassort G., Stämpfli R. Voltage clamp experiments on frog atrial heart muscle fibres with the sucrose gap technique // Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol. 1968. Vol. 301, № 2. P. 91–108.
35. Kurachi Y. Voltage-dependent activation of the inward-rectifier potassium channel in the ventricular cell membrane of guinea-pig heart // J. Physiol. 1985. Vol. 366, № 1. P. 365–385.
36. Beeler Jr. G.W., Reuter H. Voltage clamp experiments on ventricular myocardial fibres // J. Physiol. 1970. P. 165–190.
37. McAllister R.E., Noble D. The time and voltage dependence of the slow outward current in cardiac Purkinje fibres // J. Physiol. 1966. Vol. 186, № 3. P. 632–662.
38. Noble D. Electrical properties of cardiac muscle attributable to inward going (anomalous) rectification // J. Cell. Comp. Physiol. 1965. Vol. 66, № S2. P. 127–135.
39. Noma A. et al. Resting K conductances in pacemaker and non-pacemaker heart cells of the rabbit. // Jpn. J. Physiol. 1984. Vol. 34, № 2. P. 245–254.
40. Giudicessi J.R., Ackerman M.J. Potassium-channel mutations and cardiac arrhythmias - Diagnosis and therapy // Nat. Rev. Cardiol. 2012. Vol. 9, № 6. P. 319–332.
41. Zaritsky J.J. et al. The consequences of disrupting cardiac inwardly rectifying K⁺ current (IK1) as revealed by the targeted deletion of the murine Kir2.1 and Kir2.2 genes // J. Physiol. 2001. Vol. 533, № 3. P. 697–710.
42. Zobel C. et al. Molecular dissection of the inward rectifier potassium current (IK1) in rabbit cardiomyocytes: Evidence for heteromeric co-assembly of Kir2.1 and Kir2.2 // J. Physiol. 2003. Vol. 550, № 2. P. 365–372.
43. Zaritsky J.J. et al. Targeted Disruption of Kir2.1 and Kir2.2 Genes Reveals the Essential Role of the Inwardly Rectifying K⁺ Current in K⁺-Mediated Vasodilation // Circ. Res. 2000. Vol. 87, № 2. P. 160–166.
44. Nilius B., Droogmans G. Ion channels and their functional role in vascular endothelium // Physiol. Rev. 2001. Vol. 81, № 4. P. 1415–59.
45. Adams D.J., Hill M.A. Potassium channels and membrane potential in the modulation of intracellular calcium in vascular endothelial cells // Journal of Cardiovascular Electrophysiology. 2004. Vol. 15, № 5. P. 598–610.
46. Knot H.J., Zimmermann P.A., Nelson M.T. Extracellular K⁺-induced hyperpolarizations and dilatations of rat coronary and cerebral arteries involve inward rectifier K⁺ channels // J. Physiol. 1996. Vol. 492, № 2. P. 419–430.
47. McCarron J.G., Halpern W. Potassium dilates rat cerebral arteries by two independent mechanisms // Am. J. Physiol. Circ. Physiol. 1990. Vol. 259, № 3. P. H902–H908.
48. Nelson M.T. et al. Relaxation of Arterial Smooth-Muscle by Calcium Sparks // Science. 1995. Vol. 270, № 5236. P. 633–637.
49. Knot H.J., Nelson M.T. Regulation of arterial diameter and wall [Ca²⁺] in cerebral arteries of rat by membrane potential and intravascular pressure // J. Physiol., 1998. Vol. 508, № 1. P. 199–209.
50. Filosa J.A. et al. Local potassium signaling couples neuronal activity to vasodilation in the brain // Nat. Neurosci. 2006. Vol. 9, № 11. P. 1397–1403.
51. Jackson W.F. Potassium channels in the peripheral microcirculation // Microcirculation. 2005. Vol. 12, № 1. P. 113–127.
52. Bradley K.K. et al. Kir2.1 encodes the inward rectifier potassium channel in rat arterial smooth muscle cells // J. Physiol. 1999. Vol. 515 (Pt 3, № 1999. P. 639–651).
53. Quayle J.M., Dart C., Standen N.B. The properties and distribution of inward rectifier potassium currents in pig coronary arterial smooth muscle // J. Physiol. 1996. Vol. 494, № 3. P. 715–726.
54. Longden T.A. et al. Capillary K⁺-sensing initiates retrograde hyperpolarization to increase local cerebral blood flow // Nat. Neurosci. 2017. Vol. 20, № 5. P. 717–726.
55. Kim S.G., Ogawa S. Biophysical and

- physiological origins of blood oxygenation level-dependent fMRI signals // *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2012. Vol. 32, № 7. P. 1188–1206.
56. Petzold G.C., Murthy V.N. Role of astrocytes in neurovascular coupling // *Neuron*. Elsevier Inc., 2011. Vol. 71, № 5. P. 782–797.
 57. Sonkusare S.K. et al. Inward rectifier potassium (Kir2.1) channels as end-stage boosters of endothelium-dependent vasodilators // *J. Physiol.* 2016. Vol. 594, № 12. P. 3271–3285.
 58. Smith P.D. et al. Kir channels function as electrical amplifiers in rat vascular smooth muscle // *J. Physiol.* 2008. Vol. 586, № 4. P. 1147–1160.
 59. Kwan H.-Y. et al. Depletion of intracellular Ca²⁺ stores sensitizes the flow-induced Ca²⁺ influx in rat endothelial cells // *Circ. Res.* 2003. Vol. 92, № 3. P. 286–292.
 60. Ahn S.J. et al. Inwardly rectifying K⁺ channels are major contributors to flow-induced vasodilatation in resistance arteries // *J. Physiol.* 2017. Vol. 595, № 7. P. 2339–2364.
 61. Looft-Wilson R.C. et al. Flow does not alter eNOS phosphorylation at Ser1179 or Thr495 in precontracted mouse mesenteric arteries // *Physiol. Rep.* 2018. Vol. 6, № 17. P. 1–11.
 62. Tristani-Firouzi M., Etheridge S.P. Kir 2.1 channelopathies: The Andersen-Tawil syndrome // *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.* 2010. Vol. 460, № 2. P. 289–294.
 63. Dahal G.R. et al. An inwardly rectifying K⁺ channel is required for patterning // *Development*. 2012. Vol. 139, № 19. P. 3653–3664.
 64. Belus M.T. et al. Kir2.1 is important for efficient BMP signaling in mammalian face development // *Dev. Biol.* Elsevier Inc., 2018. Vol. S0012-1606, № 17. P. 30829–1.
 65. Wilde A.A.M., Bezzina C.R. Genetics of cardiac arrhythmias // *Heart*. 2005. Vol. 91, № 10. P. 1352–1358.
 66. Priori S.G. et al. A novel form of short QT syndrome (SQT3) is caused by a mutation in the KCNJ2 gene // *Circ. Res.* 2005. Vol. 96, № 7. P. 800–807.
 67. Deo M. et al. KCNJ2 mutation in short QT syndrome 3 results in atrial fibrillation and ventricular proarrhythmia // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2013. Vol. 110, № 11. P. 4291–4296.
 68. Patel C., Yan G.X., Antzelevitch C. Short QT syndrome: From bench to bedside // *Circ. Arrhythmia Electrophysiol.* 2010. Vol. 3, № 4. P. 401–408.
 69. Cheung C.-L. et al. Genome-wide association study identifies a susceptibility locus for thyrotoxic periodic paralysis at 17q24.3 // *Nat. Genet.* 2012. Vol. 44, № 9. P. 1026–1029.
 70. Jongjaroenprasert W. et al. A genome-wide association study identifies novel susceptibility genetic variation for thyrotoxic hypokalemic periodic paralysis // *J. Hum. Genet.* 2012. Vol. 57, № 5. P. 301–304.
 71. Hille B. *Ion channels of excitable membranes* // Sunderland, Mass: Sinauer Associates, Inc. p. 5. ISBN 0-87893-321-2. Third edit. Sinauer Associates, Inc., 1992. Vol. Sunderland, № Third Edition. 814 p.
 72. Hille B., Schwarz W. Potassium channels as multi-ion single-file pores // *J. Gen. Physiol.* 1978. Vol. 72, № 4. P. 409–442.
 73. Fang Y. et al. Functional expression of Kir2.x in human aortic endothelial cells: the dominant role of Kir2.2 // *Am. J. Physiol. Physiol.* 2005. Vol. 289, № 5. P. C1134–C1144.

МИХАИЛ ГУРЬЕВ
КАНАЛЫ И КАНАЛОПАТИИ

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ

ЧАСТЬ 2

Мутации в этих каналах могут приводить к нарушению клеточных функций во многих органах: аритмиям, патологиям сетчатки, периодическому параличу и сахарному диабету

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ ЧАСТЬ 2

Автор: Михаил Гурьев
Редакция: Полина Наймушина
Оформление: Никита Родионов, Михаил Гурьев
Верстка: Cornu Ammonis

Веб-версия от 11.11.2019

В первой части мы рассмотрели классические калиевые каналы внутреннего выпрямления, которые в первую очередь регулируют возбудимость клеток. Во второй части речь пойдет о подсемействах, участвующих в трансэпителиальном и трансastroцитарном транспорте калия и других ионов. Мутации в этих каналах приводят к дисбалансу электролитов, заболеваниям сетчатки и к сложным неврологическим фенотипам.

ТРАНСПОРТНЫЕ КАНАЛЫ KIR1.1, 4.X, 5.1 И 7.1

Kir1.1

Kir1.1/*KCNJ1* представлен шестью различными сплайс-изоформами и образует гомотетрамеры с проводимостью около 35 пСм [1, 2].

Kir1.1 чувствителен к внутриклеточному (но не к внеклеточному) pH. Закисление цитозоля ведет к закрытию этих каналов с pKa около 6,5 [3–8]. Мутации, сдвигающие pKa к более щелочным значениям, ведут к развитию синдрома Барттера [9–11] (см. раздел «синдром Барттера»).

На COOH-конце субъединицы Kir1.1 есть сигнал локализации в ЭПР (Arg-X-Arg [12]), и, чтобы канал достиг плазматической мембраны, требуется фосфорилирование серин-треонин киназами. Экспрессия Kir1.1 на мембране стимулируется фосфорилированием PKA, SGK-1 и PKC [13] и ингибируется различными WNK (*with no lysine/K kinase*) киназами. Мутации в WNK-1 и 4 ведут к псевдогипоальдостеронизму II типа (также называется синдромом Гордона). Для пациентов с этим синдромом характерен низкий рост, интеллектуальные нарушения, патологии зубной системы, слабость мышц, тяжелая гипертензия, низкий уровень ренина и альдостерона, метаболический ацидоз, гиперхлоремия и гиперкалиемия. Эффекты измененных вариантов WNK киназ могут быть опосредованы неправильной модуляцией Kir1.1. Так, мутация в WNK-4 снимает ингибирование NCC (*Na-Cl cotransporter*) и усиливает реабсорбцию NaCl, после чего, вследствие недостатка NaCl в кортикальной части собирательной трубочки, тормозится экскреция K⁺ [14].

Kir4.x и Kir5.1

Kir4.1/*KCNJ10* был одновременно клонирован из кДНК библиотек мозга несколькими группами и описан как KAV-2 [15], BIRK-1 [16], Kir1.2 [17] и BIR10 [18, 19], в той же работе Kir5.1/*KCNJ16* описали как BIR9.

Kir4.1 экспрессируется в основном в глиальных клетках [15], на основании чего было сделано предположение о роли этой изоформы в создании пространственного буфера для калия в глиальных клетках (англ. «K⁺-buffering») [20].

В тканях человека Kir4.1 может экспрессироваться в одиночку, образуя функциональные гомотетрамеры [21], однако он также может гетеромеризоваться с Kir5.1. У таких каналов иные биофизические характеристики, чем у гомомеров Kir4.1: они обладают большей проводимостью отдельных каналов [15, 21–24], более выраженным внутренним выпрямлением (за счет N161 в D/N сайте Kir5.1) и высокой чувствительностью к внутриклеточному pH, поскольку ток через гетеромерные каналы ингибируется при малейшем закислении и усиливается при повышении pH с pKa около 7.5 [22, 24]. Гомомеры Kir5.1 локализируются в цитозоле и не способны формировать функциональные каналы на плазматической мембране.

Kir4.2/*KCNJ15* был выделен из кДНК библиотеки человеческой почки [17], а затем другая группа ученых обнаружила этот ген при секвенировании области q22.2 на 21 хромосоме [25]. На COOH-конце Kir4.1, в отличие от Kir4.2 [26], находится АТФ-связывающий мотив Walker A [15]. Как и Kir4.1, Kir4.2 может экспрессироваться как отдельно, так и совместно с Kir5.1 [26, 27].

Kir7.1

Kir7.1/*KCNJ13* был независимо обнаружен тремя исследовательскими коллективами [28–30]. Эта изоформа значительно отличается от других каналов семейства своей аминокислотной последовательностью (гомология с ближайшим к нему Kir4.2 составляет всего около 38 %).

Свойства поры Kir7.1 весьма необычны для этого семейства: проводимость отдельных каналов необычайно мала, всего около 50 фСм; канал малочувствителен к Ba²⁺ и Cs⁺ (IC₅₀ около 1 и 10 мМ, соответственно); выпрямление тока не зависит от [Mg²⁺]_i, а амплитуда — от [K⁺]_o [28, 29]. За все эти свойства отвечает один аминокислотный остаток M125 (во всех других каналах данного семейства в этой позиции стоит аргинин). Замена метионина на аргинин увеличивает проводимость отдельных каналов приблизительно в 20 раз, а чувствительность к Ba²⁺ в 10 раз, и выпрямление тока становится таким же, как и у других членов семейства [28, 29].

Как и другие члены семейства, Kir7.1 активируется PIP₂, однако аффинность связывания ниже, чем для Kir2.1 [31].

Kir7.1 чувствителен к внутриклеточному pH, причем ток достигает максимальной амплитуды при pH 7.0 и снижает-

ся при закислении или защелачивании среды. За такое поведение отвечает остаток гистидина His26 на N-конце белка, который находится в цитоплазме. Мутации этого остатка приводят к повышению активности канала при щелочных значениях pH и усилению ингибирования в кислой среде [32].

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ТРАНСПОРТНЫХ КАНАЛОВ KIR

Kir1.1, Kir4.1 и Kir5.1 в почках

Для поддержания объема тканевой жидкости и ионного гомеостаза в организме, в почечных канальцах работают многокомпонентные транспортные системы. Эти системы обладают сложной пространственной организацией: различные каналы и транспортеры экспрессируются в различных отделах нефрона, в различных типах клеток в рамках одного отдела, и даже на апикальной и базолатеральной стороне

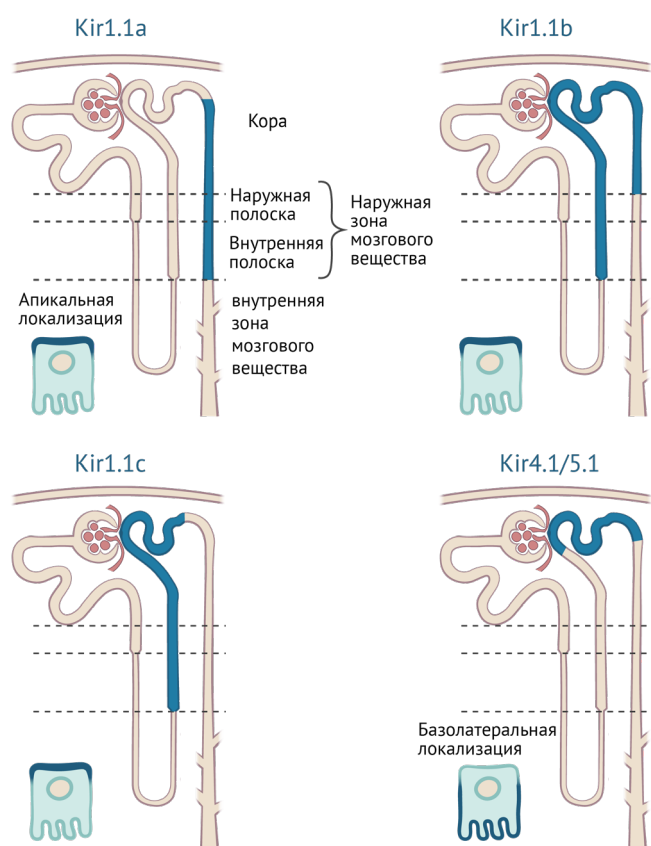


Рисунок 11 | Экспрессия транспортных каналов Kir в различных отделах нефрона и их субклеточная локализация. По [19].

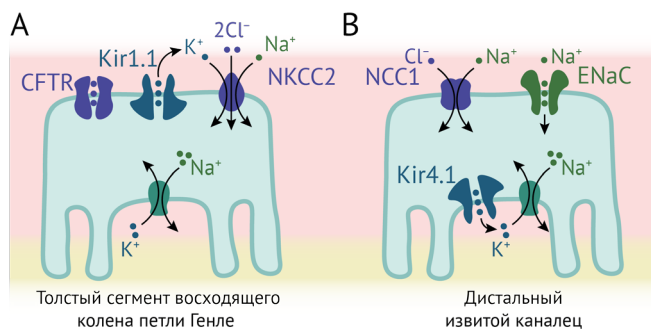


Рисунок 12 | Роль транспортных каналов Kir в толстом восходящем отделе колена петли Генле и в дистальном извитом канальце. По [19].

отдельных клеток. Калиевые каналы необходимы не только для поддержания $[K^+]$ в организме, но и для регуляции концентраций Na^+ и Cl^- . Kir1.1 играет ключевую роль в этом процессе. Он экспрессируется в толстом отделе восходящего колена петли Генле, в дистальном извитом канальце и в собирательной трубчатке и всегда располагается на апикальной мембране эпителия [33–35]. В различных отделах нефрона представлены разные изоформы, образующие каналы с различной проводимостью: в толстом отделе восходящего колена петли Генле присутствуют каналы с проводимостью 35 пСм и 70 пСм, в собирательной трубчатке проводимость отдельных каналов составляет 35 пСм [36, 37].

В толстом восходящем колене петли Генле реабсорбируется около 25 % ионов натрия в основном за счет транспортера NKCC2 ($Na^+/K^+/2Cl^-$ котранспортер) в апикальной мембране нефроцитов. Этот транспортер, как и нейрональный NKCC1, переносит по одному иону Na^+ и K^+ и два иона Cl^- внутрь клетки, а Kir1.1 поставляет K^+ из цитоплазмы к внеклеточному сайту связывания. Этот процесс называется рециклизацией K^+ (англ. *K⁺ recycling*) [38]. Накопленный в клетке Na^+ переносится в интерстициальную жидкость благодаря Na^+/K^+ -АТФазе, расположенной в базолатеральной мембране эпителия. Кроме того, Kir1.1 гиперполяризует мембрану и способствует транспорту Cl^- из клетки через базолатеральные хлоридные каналы [38]. Это обеспечивает односторонний транспорт Na^+ и Cl^- через эпителий, а также поддерживает трансэпителиальный потенциал: положительные заряды сконцентрированы в просвете канала (люмене), а отрицательные — в интерстициальной жидкости. Этот потенциал способствует транспорту Na^+ , Ca^{2+} и Mg^{2+} по парацеллюлярному пути [38].

Роль Kir1.1 в рециклизации K^+ становится ясной при нарушении работы Kir1.1: у мышей, нокаутных по этому гену, а также у пациентов с синдромом Барттера нарушена реабсорбция NaCl [36, 37].

Kir1.1 в апикальной мембране функционально связан с Cl^- каналом CFTR (*cystic fibrosis transmembrane regulator* — трансмембранный регулятор муковисцидоза) [39], который уменьшает активность Kir1.1. Это взаимодействие может быть вовлечено в реализацию эффектов антидиуретического гормона, который увеличивает проводимость Kir1.1 в дистальном извитом канальце и собирательной трубчатке [40]. Когда усиливается ток мочи, секреция АДГ уменьшается, и проводимость Kir1.1 снижается за счет взаимодействия с CFTR через белок NHERF (*Na⁺/H⁺ exchanger regulatory factor* — регуляторный фактор обмена Na^+/H^+). Таким образом, секреция калия и его потери с мочой сокращаются.

Эпителий дистального извитого канальца играет важную роль в реабсорбции Na^+ [38]. В этом процессе участвуют натриевые каналы на апикальной мембране, работающие за счет концентрационного градиента, создаваемого Na^+/K^+ -АТФазой на базолатеральной мембране. Гетеромеры Kir4.1/5.1 колокализуются с Na^+/K^+ -АТФазой [22, 23, 41] и осуществляют рециклизацию K^+ , способствуя тем самым непрерывному транспорту Na^+ . У мыши эти каналы ингибируются закислением внутриклеточной среды с рКа ~7.6 [23]. Kir4.1 также служит посредником эффектов потребления натрия и калия на экспрессию и активность NCC. При низком потреблении натрия ток через Kir4.1/5.1 высокий, мембрана эпителия при этом гиперполяризована, об-

ший уровень NCC и его фосфорилированной формы высокий, и Na^+ реабсорбируется. При высоком потреблении Na^+ ток внутреннего выпрямления и экспрессия NCC уменьшается. Мыши, в почках которых отсутствует Kir4.1, не способны регулировать активность NCC в зависимости от содержания Na^+ в пище [42] и поэтому страдают от гипокалиемии и гипертензии.

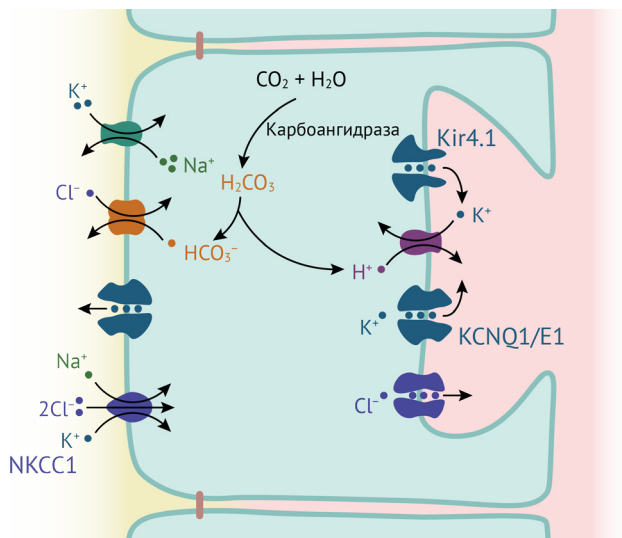


Рисунок 13 | Роль Kir4.1 в секреции кислоты париетальными клетками эпителия желудка [44].

В апикальной мембране основных клеток собирательной трубочки Kir1.1 обеспечивает секрецию K^+ в мочу [36]. В базолатеральной мембране этих клеток присутствуют гетеромеры Kir4.1/5.1, которые, по-видимому, так же, как и в дистальном извитом канальце, поддерживают работу Na^+/K^+ -АТФазы [43].

Kir4.1 в желудке

H^+/K^+ -АТФаза в составе тубуловезикул встраивается в апикальную мембрану париетальных клеток желудка при их стимуляции гистамином, гастрином или ацетилхолином и обменивает K^+ на H^+ . K^+ поступает в просвет протока через калиевые каналы, которые также активируются при стимуляции клеток. Источником H^+ служит CO_2 , который карбоангидраза превращает в H_2CO_3 , а далее H_2CO_3 диссоциирует на H^+ и HCO_3^- . HCO_3^- выходит из клетки через $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ обменники на базолатеральной мембране. NKCC1 — гомолог почечного NKCC2 — также находящийся на базолатеральной мембране, обеспечивает приток в клетку Cl^- , который затем выходит из клетки через хлорные каналы на апикальной мембране. Кроме того, на базолатеральной мембране расположена Na^+/K^+ -АТФаза, ассоциированная с K^+ каналами, которая в конечном счете поддерживает концентрационные градиенты [44].

Kir4.1 расположены на апикальной мембране париетальных клеток желудка, где колокализуются с H^+/K^+ -АТФазой, и в ранних работах высказывалось предположение, что Kir4.1 действует синергично с потенциалзависимыми калиевыми каналами KCNQ1/KCNE2, поставляя K^+ к внеклеточному сайту АТФазы [45, 46]. Однако у нокаутных по Kir4.1 животных слизистая оболочка желудка секретировала больше кислоты при более высокой экспрессии H^+/K^+ -АТФазы на поверхности клеток [47]. Возможной причиной этих неожиданных результатов может быть дефект эндцитоза, так как у нокаутных мышей тубуловезикулы не об-

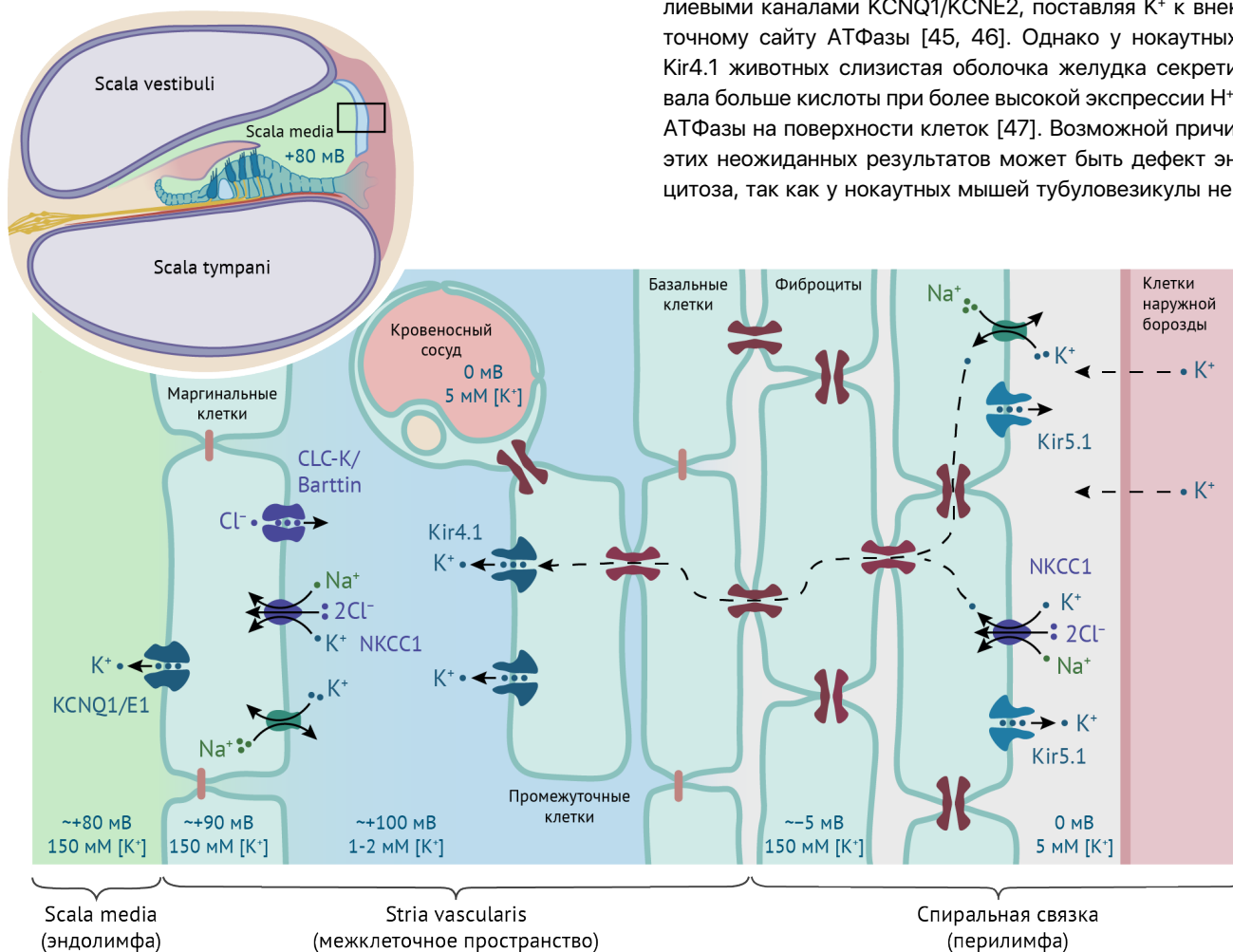


Рисунок 14 | Роль Kir4.1 и Kir5.1 в поддержании эндокохлеарного потенциала (пояснения в тексте). Темно-красным показаны щелевые контакты. По [48].

наруживаются, и H^+/K^+ -АТФаза перманентно находится на апикальной мембране. В норме же Kir4.1 является хорошим кандидатом на калиевую проводимость, способствующую секреции кислоты, поскольку он практически не чувствителен к колебаниям pH [44, 45].

Kir4.1 и Kir5.1 во внутреннем ухе

Во внутреннем ухе лестница преддверия и барабанная лестница заполнены перилимфой, мало отличающейся по составу от обычной тканевой жидкости, однако эндолимфа спирального канала отличается очень высокой концентрацией K^+ , достигающей ~ 150 мМ, а значит, высоким электрическим потенциалом ($\sim +80$ мВ) относительно крови или перилимфы; этот потенциал называют эндокохлеарным потенциалом (см. рис. 14) [48, 49]. Ионный состав и электрический потенциал эндолимфы необходимы для нормального слуха. K^+ поступает в эндолимфу через латеральную стенку улитки, которая состоит из сосудистой полоски и спиральной связки. Kir4.1 экспрессируется в эпителии сосудистой полоски [50] на апикальной мембране промежуточных клеток [51, 52]. Нокаут *Kcnj10*^{-/-} у мышей приводит к глухоте, сопровождающейся снижением концентрации K^+ в эндолимфе вдвое и нулевым эндокохлеарным потенциалом [53]. На основании этих данных сформировалось представление, что Kir4.1 создает высокий диффузионный потенциал на апикальной мембране промежуточных клеток и формирует эндокохлеарный потенциал [48, 54, 55].

Kir5.1 экспрессируется в фиброцитах спиральной связки и локализован в основном внутриклеточно [51], однако перфузия внешних каналов раствором с Ba^{2+} несколько повышает эндокохлеарный потенциал. Из этого наблюдения родилось предположение, что часть Kir5.1 достигает плазматической мембраны и служит отрицательным регулятором эндокохлеарного потенциала [51, 56].

Kir4.1 и Kir5.1 в нервной системе

Астроциты и клетки Мюллера

Важнейшей функцией астроглии и клеток Мюллера является поддержание ионного и осмотического гомеостаза внеклеточной среды. Они переносят K^+ из участков с высокой концентрацией (активно работающих синапсов) в области с низким $[K^+]_o$ [20]. Без механизма оттока K^+ активно работающие синапсы будут постоянно деполяризованы и не смогут нормально функционировать. Для удаления K^+ из перисинаптической области астроциты экспрессируют различные Kir каналы в различных участках мембраны. Основным участником этого процесса является Kir4.1 сам по себе либо вместе с Kir5.1: в гиппокампе нокаутных по Kir4.1 мышей нарушено удаление K^+ астроцитами из области синапсов в ответ на стимуляцию нейронов [57].

В ЦНС и в сетчатке Kir4.1 и Kir5.1 экспрессируются как в виде гомомеров, так и в виде гетеромеров и распределены между различными участками плазматической мембраны.

В коре головного мозга Kir4.1/5.1 и Kir4.1 находятся на отростках астроцитов, окружающих синапсы. Однако на пластинчатых окончаниях отростков астроцитов («ножках» астроцитов), подходящих к мягкой оболочке мозга и кровеносным сосудам, присутствуют только гетеромеры. То есть K^+ заходит в клетку и через гомомеры, и через гетеромеры, а покидает астроцит через гетеромерные каналы (см рис. 15).

Основное функциональное различие между гомо- и гетеромерными каналами заключается в чувствительности последних к внутриклеточному pH. В астроцитах с высокой экспрессией Na^+/HCO_3^- котранспортера его активность приводит к гиперполяризации мембраны и повышению внутриклеточного pH (на один ион Na^+ он переносит два-три HCO_3^-). Деполяризация мембраны астроцита при активной работе синапса стимулирует котранспортер, внутриклеточ-

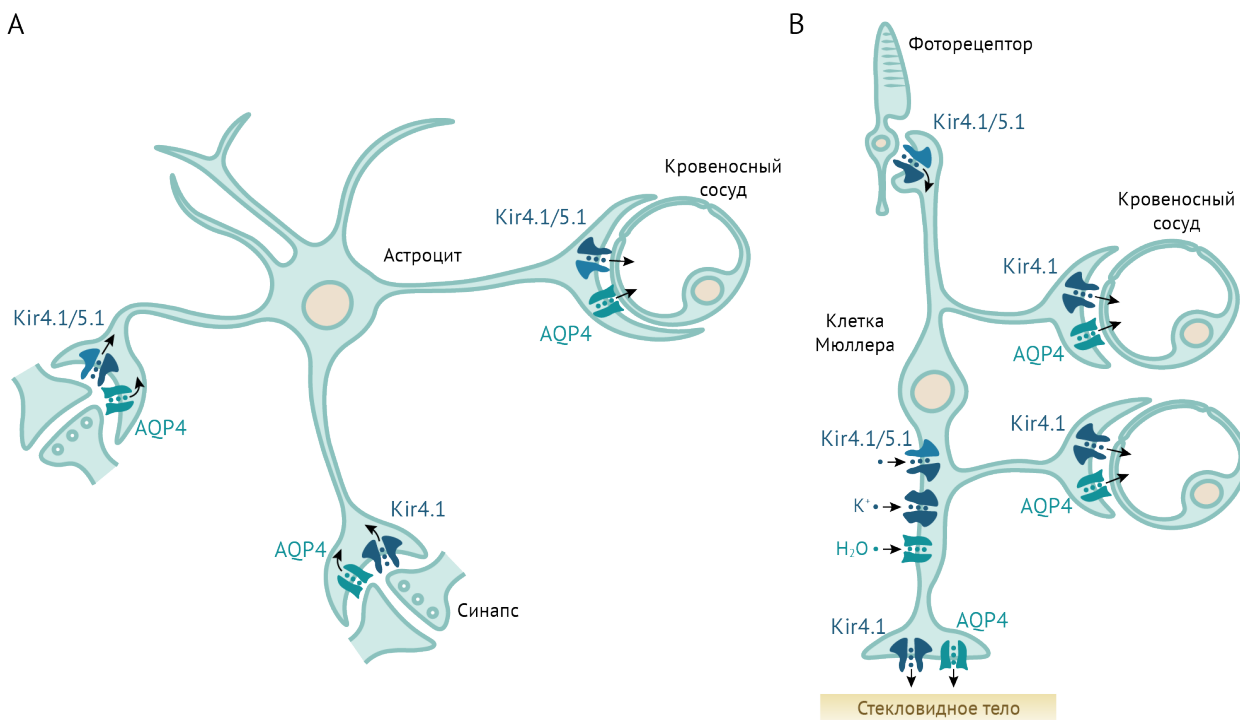


Рисунок 15 | Роль Kir4.1 и Kir5.1 в астроцитах и клетках Мюллера.

По [19]. K^+ , выделяемый активно работающими синапсами, поступает в астроциты через Kir4.1 и Kir4.1/5.1 и выводится через Kir4.1/5.1 через пластинчатые окончания отростков астроцитов, прилегающие к кровеносным сосудам. В сетчатке K^+ выделяется фоторецепторами и через клетки Мюллера выходит в кровеносные сосуды и стекловидное тело.

ный pH повышается и стимулирует ток через Kir4.1/5.1, усиливая поступление K^+ в астроцит. В тех отделах мозга, где экспрессия Na^+/HCO_3^- котранспортера низкая (например, в таламусе и гиппокампе), преобладают гомомеры Kir4.1 [58].

Появляются свидетельства роли астроцитарного Kir4.1 в патогенезе хореи Хантингтона [59] и депрессии [60]. В стриатуме мышей, служащих моделью хореи Хантингтона, экспрессия Kir4.1 в астроцитах была снижена. Низкий уровень IK в астроцитах сопровождался двукратным повышением $[K^+]_o$. Инъекция гена *Kcnj10* в составе аденовирусного вектора в стриатум этих мышей нормализовала электрофизиологические показатели астроцитов и внеклеточную концентрацию K^+ , улучшало моторные функции и выживаемость животных [59].

Исследователи сравнили экспрессию различных генов в латеральных ядрах поводков (LHb) у нормальных крыс и в модели депрессии и обнаружили значительное повышение экспрессии Kir4.1. Само по себе повышение экспрессии Kir4.1 при инъекции гена *Kcnj10* под астроцитарным промотором в составе аденовируса, избирательно заражающего астроциты, вызвало у крыс симптомы депрессии. В норме для значительной доли нейронов LHb характерна тоническая активность, однако при повышении уровня Kir4.1 в тесно окружающих эти нейроны астроцитах удаление K^+ из ограниченного пространства между нейронами и астроцитами усиливается. Снижение $[K^+]_o$, согласно уравнению Нернста, приводит к гиперполяризации нейронов и изменению характера их активности: вместо регулярных одиночных ПД возникают более редкие всплески активности. Исследователям удалось снять симптомы депрессии путем снижения экспрессии Kir4.1 в астроцитах с помощью инъекции аденовирусного вектора, содержащего малую РНК, образующую шпильки, (shRNA) против транскрипта *Kcnj10* или доставки в астроциты LHb доминантно-негативного варианта Kir4.1. В предложенной авторами модели депрессии кетамин, блокируя NMDAR (а значит, деполяризующие токи), не позволяет возникать всплескам активности в нейронах LHb и возвращает их к тонической активности, тем самым облегчая симптомы депрессии [60].

В сетчатке клетки Мюллера экспрессируют гомомер Kir4.1 на отростках, обращенных к стекловидному телу и кровеносным сосудам, но только гетеромеры на перисина-

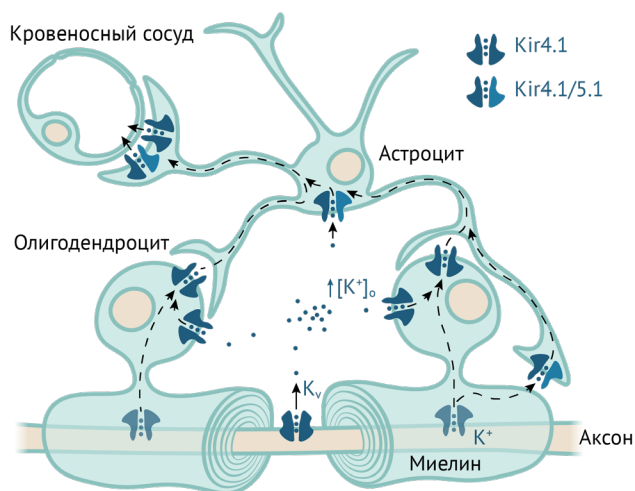


Рисунок 16 | Роль Kir4.1 и Kir5.1 в олигодендроцитах. Олигодендроциты поглощают K^+ , поступающий из аксона, и выделяют его для последующего удаления астроцитами. По [63].

тических отростках [61]. Такое распределение подсказывает, что калий входит в клетки Мюллера через гетеромеры, а выходит из них через гомомеры Kir4.1.

На секреторирующей K^+ стороне глиальных клеток Kir каналы функционально связаны с аквапоринами AQP4, нокаут которых замедляет ток K^+ через астроциты [62].

Олигодендроциты

Помимо астроглии, Kir4.1 экспрессируется в олигодендроцитах, причем как в их телах, так и в миелине, на стороне, обращенной к аксону [63]. Для изучения роли Kir4.1 в олигодендроцитах авторы исследования использовали две олигодендроцит-специфичные Cre-линии (то есть линии мышей, в олигодендроцитах которых экспрессируется Cre-рекомбиназа, которая может вырезать гены, окруженные loxP сайтами): Olig2-Cre, в которой рекомбинация происходит в более раннем возрасте, и Spn-Cre, которая активна в более позднем возрасте. С помощью первой линии они выяснили, что Kir4.1 не требуется для нормальной миелинизации аксонов в раннем возрасте. Используя обе линии, они показали, что Kir4.1 не обязателен для ремиелинизации волокон после острой демиелинизации, однако необходим для поддержания целостности миелиновых оболочек. Нокаутные животные показывают худшие результаты в тестах на двигательные функции, а удлиненное латентное время вызванных зрительных потенциалов свидетельствует о нарушениях зрения [63].

Нейроны голубого пятна

Голубое пятно, *locus coeruleus*, содержит норадренергические нейроны и участвует в процессах внимания, обучения, памяти и ответах на стресс и боль [64, 65]. Кроме того, нейроны этого ядра стимулируют дыхание в ответ на стимуляцию CO_2 [66]. В норме основной функцией pH-чувствительных нейронов голубого пятна, вероятно, является запуск тревоги или аверсии в ответ на гиперкапнию.

Гетеромеры Kir4.1/5.1 экспрессируются в хемочувствительных ядрах мозга, в том числе в нейронах голубого пятна. *Kcnj16*^{-/-} мыши, в отличие от *Kcnj10*^{-/-}, доживают до взрослого возраста и не имеют очевидных нарушений фи-

¹ Какими методами определяют локализацию канала? Некоторые выводы об экспрессии белка можно сделать по количеству его транскриптов, измеренных с помощью количественной ПЦР с обратной транскрипцией (qRT-PCR) или гибридизации *in situ*, однако количество транскриптов имеет опосредованное отношение к экспрессии белка. Также этот метод не позволяет определить субклеточную локализацию белка, поэтому такие исследования сопровождались электрофизиологическими измерениями с изолированных участков мембраны и сравнением характеристик тока с током в гетерологичной системе экспрессии. Для выяснения локализации белка напрямую можно получить антитела к белку, однако до настоящего времени получение антител к интегральным белкам ионных каналов, которые работали бы не только для вестерн-блота, но и для иммуногистохимического окрашивания, остается затруднительным. С разработкой методики CRISPR-Cas9 для получения трансгенных мышей все чаще получают мышей, у которых изучаемый белок помечен тегом (небольшим аминокислотным фрагментом). Тег может служить эпителием для стандартизованных антител (например, HA или Мус-теги), а может быть флуоресцентным (например, GFP), однако при низких уровнях экспрессии для детекции используют антитела к GFP.

² Полярность эпителия определяется по набору транспортных белков, характерных для апикальной или базолатеральной мембраны, в первую очередь, по Na^+/K^+ -АТФазе, которая в нормальных эпителиях располагается на базолатеральной мембране.

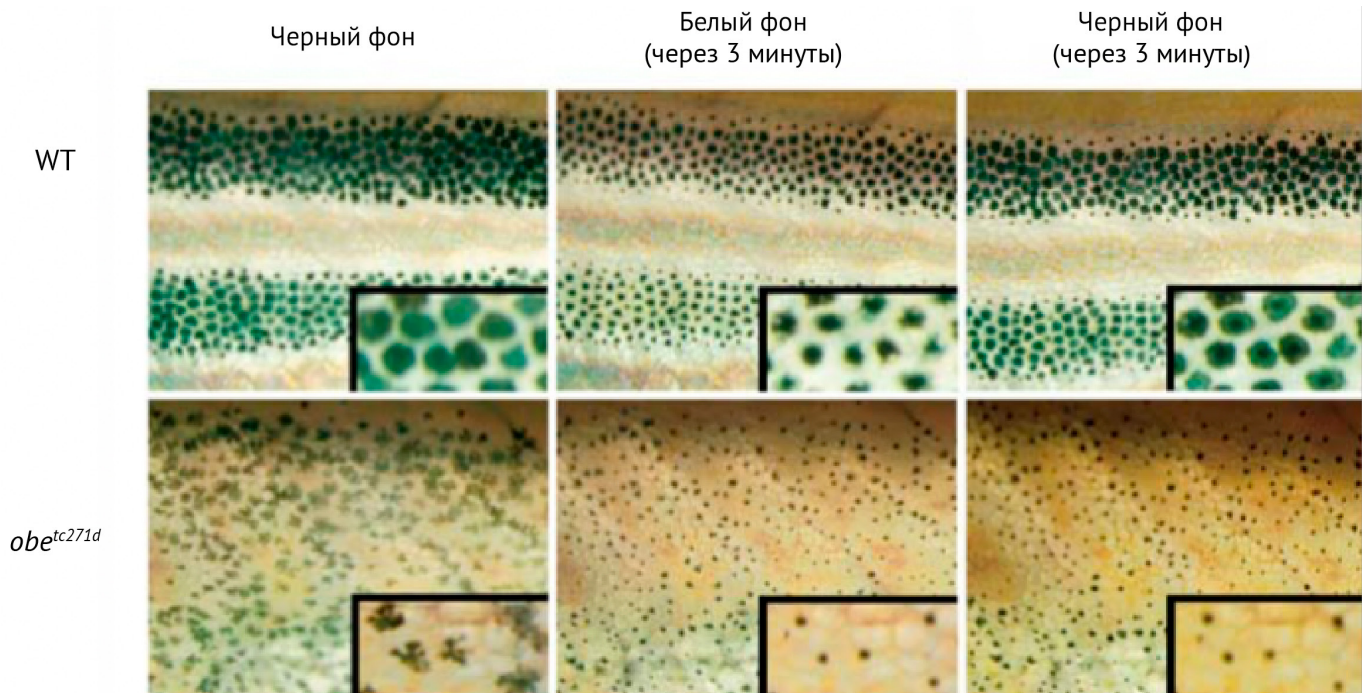


Рисунок 17 | Роль Kir4.1 и Kir5.1 в олигодендроцитах. Олигодендроциты поглощают K^+ , поступающий из аксона, и выделяют его для последующего удаления астроцитами. По [63].

зиологии и поведения. Нейроны голубого пятна этих мышей на ~75 % слабее реагируют на закисление внутриклеточной среды [67]. В голубом пятне экспрессируются и другие каналы, чувствительные к pH: TASK-1 [68, 69] чувствителен к изменению внеклеточного pH и может опосредовать остаточный ответ в нокаутных нейронах. Однако гипотеза о роли Kir4.1/5.1 в ответе на гиперкапнию в отсутствие поведенческих данных требует дальнейшей проверки.

Kir7.1 в различных тканях

Kir7.1 экспрессируется в различных эпителиях: в сосудистом сплетении [28, 70, 71] и в пигментном эпителии сетчатки [72, 73], в фолликулярных клетках щитовидной железы, в эпителии почечных канальцев (в проксимальном канальце, дистальном извитом канальце и в собирательной трубке), в эпителии носовой полости и дыхательных путей, в эпителии подвздошной кишки¹ [74]. Kir7.1 всегда колокализуется с Na^+/K^+ -АТФазой. В эпителиях с «обратной» полярностью — в сосудистом сплетении и пигментном эпителии сетчатки — они расположены на апикальной мембране, а в эпителиях с «нормальной» полярностью — на базолатеральной² [70, 74]. Колокализация с Na^+/K^+ -АТФазой послужила основанием для гипотезы о том, что Kir7.1 участвует в рециклизации калия, который захватывается АТФазой для предотвращения накопления K^+ и поддержания трансэпителиального транспорта — роль, подобная другим транспортным каналам Kir [44].

Попытка получить мышей, нокаутных по *Kcnj13*^{-/-}, выявила участие Kir7.1 в развитии носовой полости и дыхательных путей. *Kcnj13*^{-/-} мыши погибали сразу после рождения из-за несращения твердого неба и, вероятно, из-за трудностей с дыханием вследствие задержки развития легких [75]. Однако эти результаты надо с осторожностью переносить на человека, так как у человека гомозиготные нонсенс-мутации Arg166X и Trp53X не летальны и не сопровождаются несращением твердого неба [76, 77].

В другом исследовании [78] были отобраны случайные мутации, приводящие к нарушению развития трахеи у мышей, секвенирование мутантных животных показало, что у них была мутация Kir7.1^{Leu13Pro}. У мутантных мышей трахея была короче, а также было нарушено развитие хрящевых колец. Кроме того, у этих мышей был укорочен пищевод, который также является производным передней кишки. Детальное исследование этого фенотипа показало, что недоразвитие трахеи и пищевода вызвано неправильным упорядочением гладкомышечных клеток вследствие снижения фосфорилирования АКТ и вызванного этим нарушения выстраивания актинового цитоскелета.

Мыши с мозаичной экспрессией *Kcnj13*, полученные методом CRISPR-Cas9 в поколении F0 [79], а затем и мыши с тканеспецифичным нокаутом *Kcnj13* в пигментном эпителии [80] послужили хорошей системой для оценки роли Kir7.1 в пигментном эпителии сетчатки. Фоторецепторы, находящиеся напротив клеток пигментного эпителия, не окрашенных антителом против Kir7.1, дегенерируют, и иммунореактивность к родопсину появляется во внутренних сегментах фоторецепторов [79]. Вероятно, выход K^+ через Kir7.1 участвует в поддержании ионного гомеостаза внешних сегментов фоторецепторов. В темноте открыты цГМФ-управляемые катионные каналы во внешних сегментах фоторецепторов, которые пропускают Na^+ и Ca^{2+} , и их вход в клетку компенсируется выходом K^+ во внутренних сегментах фоторецепторов. На свету цГМФ-управляемые катионные каналы закрываются, и выход K^+ замедляется. Кроме того, Na^+/K^+ -АТФаза, расположенная на мембране внутренних сегментов, закачивает K^+ в клетку, и концентрация K^+ в пространстве между пигментным эпителием и фоторецепторами снижается с 5 мМ до 2 мМ. Это падение концентрации сдвигает равновесный потенциал для K^+ к более отрицательным значениям и приводит к усилению калиевого тока и торможению работы Na^+/K^+ -АТФазы на апикальной мембране клеток пигментного эпителия. Таким образом, внеклеточная концентрация K^+ возвращается к нормальным значениям [81].

Еще один эпителий с высокой экспрессией Kir7.1 — это сосудистые сплетения в желудочках мозга. Предполагается, что в сосудистом сплетении Kir7.1 (и Kv1) участвует в секреции цереброспинальной жидкости и поддержании в ней низкой концентрации K^+ [82]. Na^+/K^+ -АТФаза закачивает K^+ в клетки сосудистого сплетения и создает градиент для работы NKCC1 на апикальной мембране, который выводит K^+ из цереброспинальной жидкости. Kir7.1 поставляет калий к АТФазе и к NKCC1.

У *Danio rerio* мутация Kir7.1 вызывает вариант окраски *jaguar/obelix*. Меланосомы рыб с этой мутацией неспособны адекватно отвечать на сигналы рассредоточения меланосом — помещение на темный фон после светлого (см. рис. 17) или применение антагониста α_2 -адренорецепторов [83].

Кроме эпителиальных клеток, функциональное значение Kir7.1 было показано для миомерия матки: в середине беременности высокий уровень экспрессии Kir7.1 поддерживает мембранный потенциал миоцитов близким к ЕК, но на более поздних сроках экспрессия Kir7.1 падает, и мембрана деполяризуется до -45 мВ, стимулируя сокращения. Также в этой работе было показано, что применение блокатора Kir7.1 VU590 на мышах и на полосках человеческого миомерия вызывает более продолжительные сокращения миомерия, чем применение окситоцина [84].

МУТАЦИИ В ТРАНСПОРТНЫХ КАНАЛАХ KIR

Kir1.1 — синдром Барттера

Синдром Барттера — это патология почечных канальцев, симптомами которой являются гипокалиемия, метаболический алкалоз, излишнее выделение солей почками, повышение уровня ренина и альдостерона [85, 86]. К этому фенотипу могут приводить мутации в различных каналах и транспортерах, на основании чего синдром Барттера делится на четыре типа. При мутациях в Kir1.1 говорят о синдроме Барттера типа II (OMIM: 241200) [38, 87, 88].

Алкалоз и повышение уровня ренина и альдостерона вызваны нарушением реабсорбции NaCl. Для компенсации дефекта реабсорбции Na^+ почка выделяет ренин, превращающий ангиотензиноген в ангиотензин I. Ангиотензин I под действием ангиотензин-превращающего фермента переходит в ангиотензин II, который действует на надпочечники, стимулируя секрецию альдостерона. Альдостерон в свою очередь усиливает реабсорбцию Na^+ в дистальном нефроне через ENaC, при этом увеличивается электродвижущая сила для секреции K^+ и H^+ , что ведет к гипокалиемии и алкалозу. Почему при синдроме Барттера возникает гипокалиемия, если Kir1.1 опосредует секрецию калия? У младенцев с этим синдромом иногда наблюдается переходящая гиперкалиемия [89, 90]. Ответ на этот вопрос был дан при изучении нокаутных мышей: нокаут Kir1.1 нарушает реабсорбцию K^+ в отделе восходящего колена петли Генле через NKCC2, однако секреция через BK (*big conductance K^+ channel* — калиевый канал с высокой проводимостью) и Ca^{2+} -активируемые K^+ каналы в дистальном извитом канальце сохраняется.

Мутации в Kir4.1 — EAST/SeSAME синдром

Мутации KCNJ10 у человека вызывают EAST (*epilepsy, ataxia, sensorineural deafness, tubulopathy*) синдром, также называемый SeSAME (*seizures, sensorineural deafness, ataxia, mental retardation, electrolyte imbalances*) синдромом, (OMIM: 612780) — заболевание, наследуемое по аутосомно-рецессивному типу и сопровождающееся судорогами, нейросенсорной глухотой, атаксией, задержкой умственного развития и дисбалансом электролитов (гипокалиемия, метаболический алкалоз и гипомагниемия) [91, 92]. Все эти симптомы хорошо укладываются в представления о роли Kir4.1 в различных тканях. Судороги возникают из-за неспособности астроцитов без Kir4.1 к отведению K^+ от области синапсов, при этом астроциты и нейроны в этих областях деполяризуются и порог возбуждения снижается. Кроме того, деполяризованные астроциты не способны к эффективному захвату глутамата, что тоже ведет к снижению судорожного порога. В более раннем исследовании было высказано предположение о связи полиморфизмов в *KCNJ10* со склонностью к судорожным припадкам [93], однако реальное влияние этих полиморфизмов не выяснено.

Потеря слуха у пациентов, вероятно, связана со снижением эндокохлеарного потенциала, как это происходит и с нокаутными животными. Атаксия может возникать из-за нарушений в мозжечке (в пользу этого предположения говорит уменьшенный объем мозжечка у некоторых пациентов) или из-за потери проприоцепции, однако разделить эти возможности трудно вследствие когнитивных нарушений.

Биопсия нерва одного из пациентов показала гипомиелинизацию, что согласуется с утратой миелинизации у нокаутных животных.

Утрата Kir4.1 может вызывать потерю солей с мочой через торможение работы Na^+/K^+ -АТФазы в дистальном извитом канальце. Сниженный трансэпителиальный потенциал затрудняет реабсорбцию Na^+ и Cl^- , а также Mg^{2+} , которые выходят с мочой. Алкалоз и повышение уровня ренина и альдостерона происходят так же, как при синдроме Барттера [91]. Мутации, обнаруженные у пациентов, нарушают функцию канала различными способами как в гомомерном состоянии, так и в составе гетеромеров Kir4.1/5.1 [94, 95].

Есть сообщения о дигенных мутациях *KCNJ10* совместно с другими транспортными белками, которые вызывают различные фенотипы в гетерозиготном состоянии. Так, Yang и соавторы [96] обнаружили двух пациентов с несиндромальной тугоухостью с мутациями в *KCNJ10* и *SLC26A4* — известном гене, мутации в котором (в гомозиготном состоянии) ассоциированы с этим состоянием. В случае, описанном Hasan et al. [97], пациент с двумя миссенс-мутациями в генах *KCNJ10* и *KCNT1* в гетерозиготном состоянии страдал от тяжелых судорожных припадков и задержки развития.

Мутации в Kir7.1 — заболевания сетчатки

Мутации *KCNJ13* у человека связаны с различными заболеваниями сетчатки.

Инеевидная дегенерация сетчатки наследуется по аутосомно-доминантному типу и характеризуется нитевидной дегенерацией стекловидного тела, ранней катарактой, мелкими кристаллическими отложениями в сетчатке и отслоением сетчатки. Мутантный Kir7.1^{Arg162Trp} у пациентов с

этой патологией опосредует неселективный катионный ток, который деполяризует мембраны клеток пигментного эпителия сетчатки [98]. Мутантные субъединицы не образуют функциональных гомотетрамеров, однако могут встраиваться гетеротетрамеры с субъединицами дикого типа и изменять их свойства в первую очередь через изменение конформации субъединицы вследствие нарушения взаимодействия с PIP_2 [99].

Другие мутации утраты функции в *KCNJ13* вызывают амавроз Лебера (LCA16) — утрату фоторецепторов в раннем детстве. С этим заболеванием связаны миссенс-мутация Leu241Pro и нонсенс-мутации Arg166X и Trp53X [76, 77], также были обнаружены и другие мутации у пациентов с пигментным ретинитом с более поздним развитием [76].

В Саудовской Аравии описана серия случаев витреоретинальной дистрофии и ранней катаракты. Пациенты в этом исследовании оказались носителями одной и той же рецессивной мутации Kir7.1Ile120Thr в гомозиготном состоянии, в то время как гетерозиготные родители двух гомозиготных дочерей были здоровы [100]. Поскольку мутация проявляется только в гомозиготном состоянии, можно предположить, что это мутация утраты функции, однако функционального исследования этой мутации проведено не было.

Источники:

- Boim M.A. et al. ROMK inwardly rectifying ATP-sensitive K⁺ channel. II. Cloning and distribution of alternative forms // *Am. J. Physiol. Physiol.* 1995. Vol. 268, № 6 Pt 2. P. F1132-40.
- Chepilko S. et al. Permeation and gating properties of a cloned renal K⁺ channel // *Am. J. Physiol.* 1995. Vol. 268, № 2 Pt 1. P. C389-401.
- Choe H. et al. A conserved cytoplasmic region of ROMK modulates pH sensitivity, conductance, and gating. // *Am. J. Physiol.* 1997. Vol. 273, № 4 Pt 2. P. F516-29.
- Doi T. et al. Extracellular K⁺ and Intracellular pH Allosterically Regulate Renal Kir1.1 Channels // *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271, № 29. P. 17261-17266.
- Fakler B. et al. Identification of a titratable lysine residue that determines sensitivity of kidney potassium channels (ROMK) to intracellular pH. // *EMBO J.* 1996. Vol. 15, № 16. P. 4093-4099.
- McNicholas C.M. et al. pH-dependent modulation of the cloned renal K⁺ channel, ROMK // *Am. J. Physiol.* 1998. Vol. 275, № 6 Pt 2. P. F972-81.
- Tsai T.D. et al. Intracellular H⁺ inhibits a cloned rat kidney outer medulla K⁺ channel expressed in *Xenopus* oocytes // *Am. J. Physiol.* 1995. Vol. 268, № 5 Pt 1. P. C1173-8.
- Wang R. et al. Subunit stoichiometry of the Kir1.1 channel in proton-dependent gating // *J. Biol. Chem.* 2005. Vol. 280, № 14. P. 13433-13441.
- Schulte U. et al. pH gating of ROMK (Kir1.1) channels: control by an Arg-Lys-Arg triad disrupted in antenatal Bartter syndrome // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1999. Vol. 96, № 26. P. 15298-15303.
- Peters M. et al. Classification and rescue of ROMK mutations underlying hyperprostaglandin E syndrome/antenatal Bartter syndrome // *Kidney Int.* 2003. Vol. 64, № 3. P. 923-932.
- Rapedius M. et al. Structural and functional analysis of the putative pH sensor in the Kir1.1 (ROMK) potassium channel // *EMBO Rep.* 2006. Vol. 7, № 6. P. 611-616.
- Ma D. et al. Role of ER export signals in controlling surface potassium channel numbers // *Science.* 2001. Vol. 291, № 5502. P. 316-319.
- Connell A.D.O. et al. Phosphorylation-regulated endoplasmic reticulum retention signal in the renal outer-medullary K⁺ channel (ROMK) // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005. Vol. 102, № 28. P. 9954-9959.
- Zeng W.-Z. et al. Evidence for endocytosis of ROMK potassium channel via clathrin-coated vesicles // *Am. J. Physiol. Physiol.* 2002. Vol. 283, № 4. P. F630-F639.
- Takumi T. et al. A Novel ATP-dependent Inward Rectifier Potassium Channel Expressed Predominantly in Glial Cells // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270, № 27. P. 16339-16346.
- Bredt D.S. et al. Cloning and expression of two brain-specific inwardly rectifying potassium channels. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1995. Vol. 92, № 15. P. 6753-6757.
- Shuck M.E. et al. Cloning and Characterization of Two K⁺ Inward Rectifier (Kir) 1.1 Potassium Channel Homologs from Human Kidney (Kir1.2 and Kir.3) // *J. Biol. Chem.* 1997. Vol. 272, № 1. P. 586-593.
- Bond C.T. et al. Cloning and expression of a family of inward rectifier potassium channels // *Receptors and Channels.* 1994. Vol. 2, № 3. P. 183-191.
- Hibino H. et al. Inwardly Rectifying Potassium Channels: Their Structure, Function, and Physiological Roles // *Physiol. Rev.* 2010. Vol. 90, № 1. P. 291-366.
- Newman E.E.A. Regional specialization of retinal glial cell membrane // *Nature.* 1984. Vol. 309. P. 155-157.
- Pessia M. et al. Subunit positional effects revealed by novel heteromeric inwardly rectifying K⁺ channels // *EMBO J.* 1996. Vol. 15, № 12. P. 2980-2987.
- Tanemoto M. et al. In vivo formation of a proton-sensitive K⁺ channel by heteromeric subunit assembly of Kir5.1 with Kir4.1 // *J. Physiol.* 2000. Vol. 525, № 3. P. 587-592.
- Lourd S. et al. An inward rectifier K⁺ channel at the basolateral membrane of the mouse distal convoluted tubule: Similarities with Kir4-Kir5.1 heteromeric channels // *J. Physiol.* 2002. Vol. 538, № 2. P. 391-404.
- Yang Z. et al. Biophysical and Molecular Mechanisms Underlying the Modulation of Heteromeric Kir4.1-Kir5.1 Channels by CO₂ and pH // *J. Gen. Physiol.* 2000. Vol. 116, № September 2014. P. 33-45.
- Gosset P. et al. A new inward rectifier potassium channel gene (KCNJ15) localized on chromosome 21 in the Down syndrome chromosome region 1 (DCR1) // *Genomics.* 1997. Vol. 44, № 2. P. 237-241.
- Pearson W.L. et al. Expression of a functional Kir4 family inward rectifier K⁺ channel from a gene cloned from mouse liver // *J. Physiol.* 1999. Vol. 514, № 3. P. 639-653.
- Pessia M. et al. Differential pH sensitivity of Kir4.1 and Kir4.2 potassium channels and their modulation by heteropolymerisation with Kir5.1 // *J. Physiol.* 2001. Vol. 532, № 2. P. 359-367.
- Döring F. et al. The epithelial inward rectifier channel Kir7.1 displays unusual K⁺ permeation properties // *J. Neurosci.* 1998. Vol. 18, № 21. P. 8625-8636.
- Krapivinsky G. et al. A novel inward rectifier K⁺ channel with unique pore properties // *Neuron.* 1998. Vol. 20, № 5. P. 995-1005.
- Partiseti M. et al. Cloning and characterization of a novel human inwardly rectifying potassium channel predominantly expressed in small intestine // *FEBS Lett.* 1998. Vol. 434, № 1-2. P. 171-176.
- Rohacs T. et al. Specificity of activation by phosphoinositides determines lipid regulation of Kir channels // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2003. Vol. 100, № 2. P. 745-750.
- Hughes B.A., Swaminathan A. Modulation of the Kir7.1 potassium channel by extracellular and intracellular pH // *Am. J. Physiol. Physiol.* 2008. Vol. 294, № 2. P. C423-C431.
- Kohda Y. et al. Localization of the ROMK potassium channel to the apical membrane of distal nephron in rat kidney // *Kidney Int.* 1998. Vol. 54, № 4. P. 1214-1223.
- Ortega B. et al. Stable, polarized, functional expression of Kir1.1b channel protein in Madin-Darby canine kidney cell line // *J. Physiol.* 2000. Vol. 528, № 1. P. 5-13.
- Xu J.Z. et al. Localization of the ROMK protein on apical membranes of rat kidney nephron segments // *Am. J. Physiol.* 1997. Vol. 273. P. F739-F748.
- Lu M. et al. Absence of small conductance K⁺ channel (SK) activity in apical membranes of thick ascending limb and cortical collecting duct in ROMK (Bartter's) knockout mice // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277, № 40. P. 37881-37887.
- Lorenz J.N. et al. Impaired renal NaCl absorption in mice lacking the ROMK potassium channel, a model for type II Bartter's syndrome // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277, № 40. P. 37871-37880.
- Hebert S.C. et al. Molecular Diversity and Regulation of Renal Potassium Channels // *Physiol. Rev.* 2005. Vol. 85, № 1. P. 319-371.
- Lu M. et al. CFTR is required for PKA-regulated ATP sensitivity of Kir1.1 potassium channels in mouse kidney // *J. Clin. Invest.* 2006. Vol. 116, № 3. P. 797-807.
- Field M.J., Stanton B.A., Giebisch G.H. Influence of ADH on renal potassium handling: A micropuncture and microperfusion study // *Kidney Int.* 1984. Vol. 25, № 3. P. 502-511.
- Tucker S.J. et al. pH Dependence of the inwardly rectifying potassium channel, Kir5.1, and localization in renal tubular epithelia // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275, № 22. P. 16404-16407.
- Wu P. et al. Kir4.1/Kir5.1 Activity Is Essential for Dietary Sodium Intake-Induced Modulation of Na-Cl Cotransporter // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2018. Vol. 30, № 2. P. 216-227.
- Lachheb S. et al. Kir4.1/Kir5.1 channel forms the major K⁺ channel in the basolateral membrane of mouse renal collecting duct principal cells // *Am. J. Physiol. Physiol.* 2008. Vol. 294, № 6. P. F1398-F1407.
- Sepúlveda F. V. et al. Molecular Aspects of Structure, Gating, and Physiology of pH-Sensitive Background K₂P and Kir K⁺-Transport Channels // *Physiol. Rev.* 2015. Vol. 95, № 1. P. 179-217.
- Fujita A. et al. Specific localization of an inwardly rectifying K⁺ channel, Kir4.1, at the apical membrane of rat gastric parietal cells; its possible involvement in K⁺ recycling for the H⁺-K⁺-pump // *J. Physiol.* 2002. Vol. 540, № 1. P. 85-92.
- Kaufhold M.A. et al. Localization, Trafficking, and Significance for Acid Secretion of Parietal Cell Kir4.1 and KCNQ1 K⁺ Channels // *Gastroenterology.* 2008. Vol. 134, № 4. P. 1058-1069.
- Song P. et al. Kir4.1 Channel Expression Is Essential for Parietal Cell Control of Acid Secretion // *J. Biol. Chem.* 2011. Vol. 286, № 16. P. 14120-14128.
- Hibino H., Kurachi Y. Molecular and Physiological Bases of the K⁺ Circulation in the Mammalian Inner Ear // *Physiology.* 2006. Vol. 21, № 5. P. 336-345.
- Békésy G. V. Resting potentials inside the cochlear partition of the guinea pig // *Nature.* 1952. Vol. 169, № 4293. P. 241-242.
- Hibino H. et al. An ATP-dependent inwardly rectifying potassium channel, KAB-2 (Kir4.1), in cochlear stria vascularis of inner ear: its specific subcellular localization and correlation with the formation of endocochlear potential. // *J. Neurosci.* 1997. Vol. 17, № 12. P. 4711-4721.
- Hibino H. et al. Expression of an inwardly rectifying K⁺ channel, Kir5.1, in specific types of fibrocytes in the cochlear lateral wall suggests its functional importance in the establishment of endocochlear potential // *Eur. J. Neurosci.* 2004. Vol. 19, № 1. P. 76-84.

52. Ando M., Takeuchi S. Immunological identification of an inward rectifier K⁺ channel (Kir4.1) in the intermediate cell (melanocyte) of the cochlear stria vascularis of gerbils and rats // *Cell Tissue Res.* 1999. Vol. 298, № 1. P. 179–183.
53. Marcus D.C. et al. KCNJ10 (Kir4.1) potassium channel knockout abolishes endocochlear potential // *Am. J. Physiol. Physiol.* 2013. Vol. 282, № 2. P. C403–C407.
54. Nin F. et al. The endocochlear potential depends on two K⁺ diffusion potentials and an electrical barrier in the stria vascularis of the inner ear // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008. Vol. 105, № 5. P. 1751–1756.
55. Takeuchi S., Ando M., Kakigi A. Mechanism generating endocochlear potential: Role played by intermediate cells in stria vascularis // *Biophys. J.* 2000. Vol. 79, № 5. P. 2572–2582.
56. Marcus D.C. Characterization of potassium permeability of cochlear duct by perilymphatic perfusion of barium // *Am. J. Physiol. Physiol.* 1984. Vol. 247, № 3. P. C240–C246.
57. Djukic B. et al. Conditional Knock-Out of Kir4.1 Leads to Glial Membrane Depolarization, Inhibition of Potassium and Glutamate Uptake, and Enhanced Short-Term Synaptic Potentiation // *J. Neurosci.* 2007. Vol. 27, № 42. P. 11354–11365.
58. Schmitt B.M. et al. Na/HCO₃ Cotransporters in Rat Brain: Expression in Glia, Neurons, and Choroid Plexus // *J. Neurosci.* 2000. Vol. 20, № 18. P. 6839–6848.
59. Tong X. et al. Astrocyte Kir4.1 ion channel deficits contribute to neuronal dysfunction in Huntington's disease model mice // *Nat. Neurosci.* 2014. Vol. 17, № 5. P. 694–703.
60. Cui Y. et al. Astroglial Kir4.1 in the lateral habenula drives neuronal bursts in depression // *Nature.* Nature Publishing Group, 2018. Vol. 554, № 7692. P. 323–327.
61. Ishii M. et al. Differential expression and distribution of Kir5.1 and Kir4.1 inwardly rectifying K⁺ channels in retina // *Am. J. Physiol. Physiol.* 2003. Vol. 285, № 2. P. C260–C267.
62. Padmawar P. et al. K⁺ waves in brain cortex visualized using a long-wavelength K⁺-sensing fluorescent indicator // *Nat. Methods.* 2005. Vol. 2, № 11. P. 825–827.
63. Schirmer L. et al. Oligodendrocyte-encoded Kir4.1 function is required for axonal integrity // *Elife.* 2018. Vol. 7. P. 1–21.
64. Llorca-Torralla M. et al. Noradrenergic Locus Coeruleus pathways in pain modulation // *Neuroscience.* IBRO, 2016. Vol. 338. P. 93–113.
65. Benarroch E.E. Locus coeruleus // *Cell Tissue Res. Cell and Tissue Research,* 2018. Vol. 373. P. 221–232.
66. Gargaglioni L.H., Hartzler L.K., Putnam R.W. The Locus Coeruleus and Central Chemosensitivity // *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2010. Vol. 173, № 3. P. 264–273.
67. D'Adamo M.C. et al. Genetic inactivation of Kcnj16 identifies Kir5.1 as an important determinant of neuronal PCO₂/pH sensitivity // *J. Biol. Chem.* 2011. Vol. 286, № 1. P. 192–198.
68. Sirois J.E. et al. The TASK-1 Two-Pore Domain K⁺ Channel Is a Molecular Substrate for Neuronal Effects of Inhalation Anesthetics // *J. Neurosci.* 2000. Vol. 20, № 17. P. 6347–6354.
69. Talley E.M. et al. TASK-1, a two-pore domain K⁺ channel, is modulated by multiple neurotransmitters in motoneurons // *Neuron.* 2000. Vol. 25, № 2. P. 399–410.
70. Nakamura N. et al. Inwardly rectifying K⁺ channel Kir7.1 is highly expressed in thyroid follicular cells, intestinal epithelial cells and choroid plexus epithelial cells: implication for a functional coupling with Na⁺, K⁺-ATPase // *Biochem. J.* 1999. Vol. 342, № 2. P. 329–336.
71. Hasselblatt M. et al. Identification of novel diagnostic markers for choroid plexus tumors: A microarray-based approach // *Am. J. Surg. Pathol.* 2006. Vol. 30, № 1. P. 66–74.
72. Shimura M. et al. Expression and permeation properties of the K⁺ channel Kir7.1 in the retinal pigment epithelium // *J. Physiol.* 2001. Vol. 531, № 2. P. 329–346.
73. Kusaka S. et al. Functional Kir7.1 channels localized at the root of apical processes in rat retinal pigment epithelium // *J. Physiol.* 2001. Vol. 531, № 1. P. 27–36.
74. Cornejo I. et al. Tissue distribution of Kir7.1 inwardly rectifying K⁺ channel probed in a knock-in mouse expressing a haemagglutinin-tagged protein // *Front. Physiol.* 2018. Vol. 9, № APR. P. 1–12.
75. Villanueva S. et al. Cleft palate, moderate lung developmental retardation and early postnatal lethality in mice deficient in the Kir7.1 inwardly rectifying K⁺ channel // *PLoS One.* 2015. Vol. 10, № 9. P. 1–15.
76. Sergouniotis P.I. et al. Recessive mutations in KCNJ13, encoding an inwardly rectifying potassium channel subunit, cause leber congenital amaurosis // *Am. J. Hum. Genet.* The American Society of Human Genetics, 2011. Vol. 89, № 1. P. 183–190.
77. Pattnaik B.R. et al. A Novel KCNJ13 Nonsense Mutation and Loss of Kir7.1 Channel Function Causes Leber Congenital Amaurosis (LCA16) // *Hum. Mutat.* 2015. Vol. 36, № 7. P. 720–727.
78. Offermanns S. et al. The potassium channel KCNJ13 is essential for smooth muscle cytoskeletal organization during mouse tracheal tubulogenesis // *Nat. Commun.* Springer US, 2018. Vol. 9, № 1. P. 1–13.
79. Zhong H. et al. CRISPR-engineered mosaicism rapidly reveals that loss of Kcnj13 function in mice mimics human disease phenotypes // *Sci. Rep.* 2015. Vol. 5. P. 1–9.
80. Roman D. et al. Conditional loss of Kcnj13 in the retinal pigment epithelium causes photoreceptor degeneration // *Exp. Eye Res.* Elsevier, 2018. Vol. 176, № June. P. 219–226.
81. Kumar M., Pattnaik B.R. Focus on Kir7.1: Physiology and channelopathy // *Channels.* 2015. Vol. 8, № 6. P. 488–495.
82. Damkier H.H., Brown P.D., Praetorius J. Cerebrospinal Fluid Secretion by the Choroid Plexus // *Physiol. Rev.* 2013. Vol. 93, № 4. P. 1847–1892.
83. Iwashita M. et al. Pigment Pattern in jaguar/obelisk Zebrafish Is Caused by a Kir7.1 Mutation: Implications for the Regulation of Melanosome Movement // *PLoS Genet.* 2006. Vol. 2, № 11. P. e197.
84. McCloskey C. et al. The inwardly rectifying K⁺ channel KIR7.1 controls uterine excitability throughout pregnancy // *EMBO Mol. Med.* 2014. Vol. 6, № 9. P. 1161–1174.
85. Asteria C. Molecular basis of Bartter's syndrome: New insights into the correlation between genotype and phenotype // *Eur. J. Endocrinol.* 1997. Vol. 137, № 6. P. 613–615.
86. Peters M. et al. Clinical presentation of genetically defined patients with hypokalemic salt-losing tubulopathies // *Am. J. Med.* 2002. Vol. 112, № 3. P. 183–190.
87. Feldmann D., Alessandri J.-L., Deschênes G. Large Antenatal Deletion Bartter of the 5 End of the ROMK 1 Gene Causes Syndrome of Antenatal Bartter Syndrome // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1998. Vol. 9, № 12. P. 2357–2359.
88. Simon D. et al. Genetic heterogeneity of Bartter's syndrome revealed by mutations in the K⁺ channel, ROMK. // *Nat. Genet.* 1996. Vol. 14, № 2. P. 152–156.
89. Cho J.T., Guay-Woodford L.M. Heterozygous Mutations of The Gene for Kir 1.1 (ROMK) in Antenatal Bartter Syndrome Presenting with Transient Hyperkalemia, Evolving to a Benign Course // *J. Korean Med. Sci.* 2003. Vol. 18, № 1. P. 65–68.
90. Finer G. et al. Transient neonatal hyperkalemia in the antenatal (ROMK defective) Bartter syndrome // *J. Pediatr.* 2003. Vol. 142, № 3. P. 318–323.
91. Scholl U.I. et al. Seizures, sensorineural deafness, ataxia, mental retardation, and electrolyte imbalance (SeSAME syndrome) caused by mutations in KCNJ10 // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2009. Vol. 106, № 14. P. 5842–5847.
92. Bockenbauer D. et al. Epilepsy, Ataxia, Sensorineural Deafness, Tubulopathy, and KCNJ10 Mutations // *N. Engl. J. Med.* 2009. Vol. 360, № 19. P. 1960–1970.
93. Buono R.J. et al. Association between variation in the human KCNJ10 potassium ion channel gene and seizure susceptibility // *Epilepsy Res.* 2004. Vol. 58, № 2–3. P. 175–183.
94. Baukowitz T. et al. KCNJ10 gene mutations causing EAST syndrome (epilepsy, ataxia, sensorineural deafness, and tubulopathy) disrupt channel function // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2010. Vol. 107, № 32. P. 14490–14495.
95. Sala-Rabanal M. et al. Molecular mechanisms of EAST/SeSAME syndrome mutations in Kir4.1 (KCNJ10) // *J. Biol. Chem.* 2010. Vol. 285, № 46. P. 36040–36048.
96. Yang T. et al. Mutations of KCNJ10 Together with Mutations of SLC26A4 Cause Digenic Nonsyndromic Hearing Loss Associated with Enlarged Vestibular Aqueduct Syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* The American Society of Human Genetics, 2009. Vol. 84, № 5. P. 651–657.
97. Hasan S.M. et al. Lethal digenic mutations in the K⁺ channels Kir4.1 (KCNJ10) and SLACK (KCNT1) associated with severe-disabling seizures and neurodevelopmental delay // *J. Neurophysiol.* 2017. Vol. 118. P. 2402–2411.
98. Hejtmančík J.F. et al. Mutations in KCNJ13 Cause Autosomal-Dominant Snowflake Vitreoretinal Degeneration // *Am. J. Hum. Genet.* 2008. Vol. 82, № 1. P. 174–180.
99. Pattnaik B.R. et al. Snowflake vitreoretinal degeneration (SVD) mutation R162W provides new insights into Kir7.1 ion channel structure and function. // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, № 8. P. 1–12.
100. Khan A.O. et al. A distinct vitreo-retinal dystrophy with early-onset cataract from recessive KCNJ13 mutations // *Ophthalmic Genet.* 2015. Vol. 36, № 1. P. 79–84.

МИХАИЛ ГУРЬЕВ
КАНАЛЫ И КАНАЛОПАТИИ

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ

ЧАСТЬ 3

Мы поговорим про калиевые каналы, активируемые G-белками, которые играют важную роль в передаче сигнала многих рецепторов гормонов и нейромедиаторов

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ ЧАСТЬ 3

Автор: Михаил Гурьев
Редакция: Рита Савицкая
Оформление: Никита Родионов, Михаил Гурьев
Верстка: Cornu Ammonis

Веб-версия от 20.09.2020

В первой и второй частях речь шла о калиевых каналах внутреннего выпрямления, которые участвуют в поддержании потенциала покоя, а также в трансэпителиальном и трансстроцитарном транспорте калия. Сейчас мы поговорим про калиевые каналы, активируемые G-белками, которые играют важную роль в передаче сигнала многих рецепторов гормонов и нейромедиаторов. Мутации в этих каналах приводят к нарушениям развития, первичному гиперальдостеронизму и удлинению интервала QT.

KIR3.X/GIRK – КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ, АКТИВИРУЕМЫЕ G-БЕЛКАМИ

В геноме человека закодировано более 800 типов рецепторов, сопряженных с G-белками (*GPCR — G protein-coupled receptors*), лигандами которых обычно служат гормоны, нейромедиаторы, цитокины, одоранты и другие молекулы. Активация рецептора, в свою очередь, ведет к активации тримерного G-белка, субъединицы которого, $G\alpha$ и $G\beta\gamma$, запускают внутриклеточные сигнальные каскады. Субъединицы $G\alpha$ подразделяются на три классических типа: стимулирующие аденилатциклазу $G\alpha_s$, ингибиторные $G\alpha_i$ и стимулирующие фосфолипазу C $G\alpha_q$. Каналы подсемейства Kir3.x, также называемые GIRK¹ (*G protein-coupled inwardly-rectifying K⁺ channels*), включены в каскад рабо-

ты ряда GPCR и активируются $G\beta\gamma$ -субъединицами некоторых G-белков (см. Рисунок 18). Так, в сердце эти каналы вызывают гиперполяризацию мембраны, например, в ответ на стимуляцию ацетилхолином M_2 -холинорецепторов или аденозином A_1 -пуринергических рецепторов. В других возбудимых клетках GIRK участвуют в сигнальных каскадах G_i -сопряженных рецепторов соматостатина [1], рецепторов серотонина 5HT₁ [2], GABA_B, дофаминовых D₂-рецепторов [3], α_2 -адренорецепторов, δ -, κ - и μ -опиоидных рецепторов [4, 5] и др.

¹Для этого подсемейства закрепилась старая номенклатура GIRK1–4 вместо унифицированной Kir3.1–4, и эти две системы существуют параллельно.

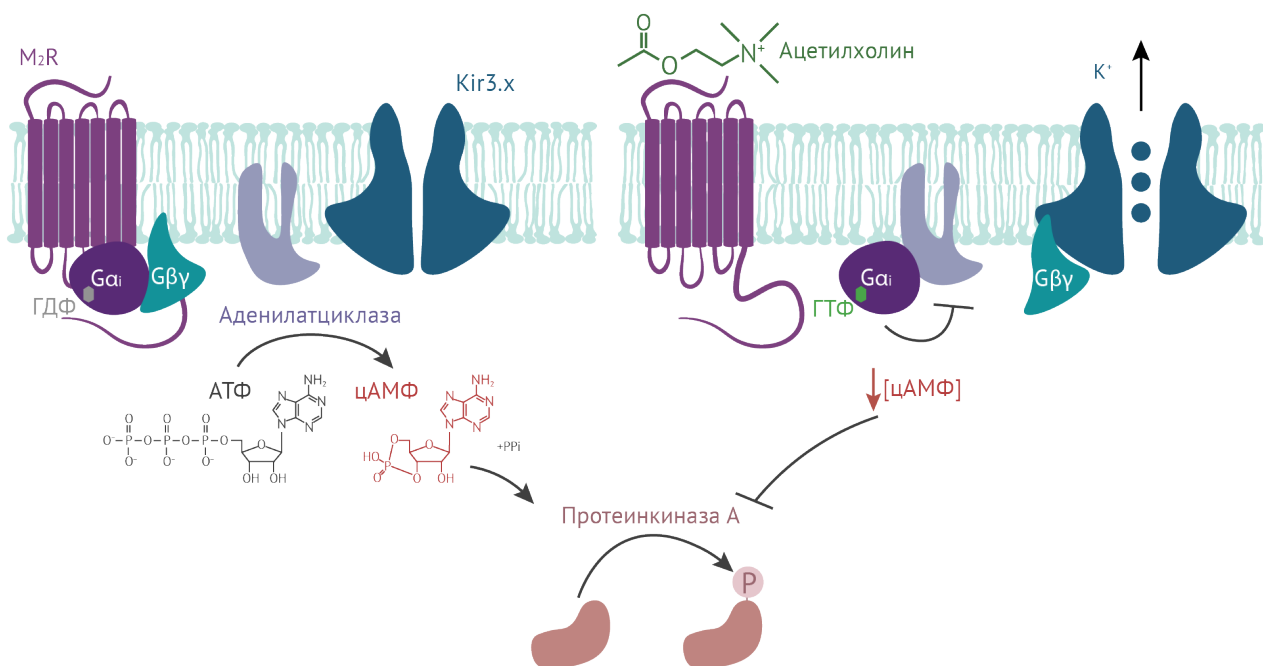


Рисунок 18 | Активация GIRK G-белками (на примере активации M_2R ацетилхолином).

В отсутствие агониста G-белок связан с ГДФ и находится в тримерном состоянии. При связывании ацетилхолина с рецептором сигнал передается на G-белок, в котором ГДФ заменяется на ГТФ. G-белок диссоциирует на $G\alpha$ и $G\beta\gamma$. $G\alpha_i$ ингибирует аденилатциклазу — фермент, который превращает АТФ в циклический АМФ (цАМФ). Снижение концентрации цАМФ в цитозоле тормозит активность протеинкиназы А. $G\beta\gamma$, в свою очередь, связывается с каналами GIRK и активирует их, что приводит к гиперполяризации мембраны. Другие типы G-белков (G_q и G_s) не влияют на активность GIRK (подробнее в тексте).

У человека GIRK представлены четырьмя изоформами, которые образуют гомотетрамеры и гетеротетрамеры различного состава; функциональные тетрамерные комплексы также называют K_G -каналами.

Первым был клонирован GIRK1/Kir3.1/KCNJ3 из библиотеки кДНК сердца крысы. Было показано, что Kir3.1 входит в состав K_G -каналов [6, 7]. Однако гомотетрамеры Kir3.1 нефункциональны [8–11], поскольку удерживаются в ЭПР [12, 13]. Kir3.1 на плазматической мембране существуют в составе комплексов Kir3.1/3.2 [14] или Kir3.1/3.4 [8].

Kir3.2/GIRK2/KCNJ6 представлен несколькими сплайс-вариантами [15–17] с тканеспецифичными паттернами экспрессии, которые могут образовывать как гомомеры [15, 18], так и гетеромеры [18–21]. Гомомеры Kir3.2 находятся на плазматической мембране а также на везикулах в цитоплазме, поскольку на их N-конце есть мотив, запускающий эндоцитоз канала [12, 22].

Два варианта Kir3.3/GIRK3/KCNJ9 были обнаружены в библиотеке кДНК мозга мыши [14, 23], однако результаты исследования свойств данных изоформ противоречивы: в части работ коэкспрессия Kir3.3 с Kir3.1 [12, 24, 25], Kir3.2 [24, 25] или Kir3.4 [25] не давала измеримых токов, в других удавалось зарегистрировать высокоамплитудные токи гетеромеров Kir3.3/Kir3.1 [9, 23, 26] и Kir3.3/Kir3.2 [26, 27]. Коэкспрессия Kir3.3 с Kir3.2, Kir3.1/3.2 Kir3.1/3.4 в общем случае приводит к снижению токов, поскольку Kir3.3 не имеет сигнала экспорта из ЭПР, но несет сигнал лизосомной локализации [12, 24, 25]. На C-конце изоформ Kir3.3 и Kir3.2с находится PDZ-связывающий мотив (*postsynaptic density-95, discs large, zona occludens domain*), который важен для локализации на плазматической мембране, осуществляемой через взаимодействие с PDZ-доменом белка SNX27 (*Sorting nexin 27*) [26].

Kir3.4/GIRK4/CIR/KCNJ5 был обнаружен в ткани предсердия крысы методом иммунопреципитации с антителом против Kir3.1 (при этом в осадок выпадает не только белок, против которого нацелено антитело, но и все другие компоненты комплекса, в который входит этот белок) [28]. Различными методами было показано, что гетеромеры Kir3.1/Kir3.4 образуют сердечные K_G -каналы [28–31], однако в предсердиях также были обнаружены гомотетрамеры Kir3.4 [32].

Регуляция G-белками, PIP2 и $[Na^+]_i$

Субъединицы $G\beta\gamma$, ассоциированные с различными рецепторами, различаются способностью активировать каналы GIRK, причем эта селективность зависит именно от рецептора и не зависит от конкретных подтипов $G\beta$ и $G\gamma$. Удивительно, что человеческий рецептор может стимулировать K_G -ток в клетках кукурузной листовой совки *Spodoptera frugiperda* (клетки этих бабочек обычно используются для синтеза рекомбинантных белков) с помощью эндогенных $G\beta\gamma$ [33]. Так, калиевый ток стимулируют $G\beta\gamma$, связанные с $G\alpha$ -сопряженным M_2R , но не с $G\alpha_s$ -сопряженным β_1 - и β_2 -адренергическими рецепторами (β_1AR и β_2AR) и не с $G\alpha_q$ -сопряженными рецепторами. До

недавних пор селективность $G\beta\gamma$ -субъединиц оставалась загадкой. Если активация $G\alpha_q$ снижает содержание PIP_2 за счет гидролиза последнего фосфолипазой C, и недостаточный уровень PIP_2 препятствует активации канала [34], то вопрос о селективности между $G\alpha_i$ и $G\alpha_s$ оказался несколько сложнее. Высказывались гипотезы о существовании GIRK в виде макромолекулярного комплекса с $G\alpha_i$, но не с $G\alpha_s$ -сопряженными рецепторами [35, 36], или о более сильном связывании $G\beta\gamma$ с комплексом $G\alpha_s \cdot GTF$, из-за чего количества $G\beta\gamma$ -субъединиц оказывается недостаточно для активации GIRK [37]. В серии убедительных экспериментов Тухара и МакКиннон² показали, что $G\alpha_q$ -сопряженные рецепторы высвобождают $G\beta\gamma$ быстрее и в большем количестве, чем рецепторы, сопряженные с $G\alpha_s$, и эти $G\beta\gamma$ способны влиять не только на GIRK, но и на другие мишени (например, ингибировать TRPM3) [38]. Таким образом, специфичность субъединиц $G\beta\gamma$ определяется кинетическими параметрами.

Каналы, содержащие субъединицы Kir3.2 или Kir3.4, могут активироваться при повышении концентрации Na^+ в цитозоле с EC50 ~ 30–40 мМ [25, 39, 40]. Этот механизм важен для ограничения возбудимости клеток: при продолжительной деполяризации мембраны излишний натрий активирует K_G -ток, который возвращает мембранный потенциал к нормальному значению потенциала покоя. За чувствительность Kir3.2 к Na^+ отвечает остаток аспартата D228, который находится в цитоплазматическом домене канала [39, 40].

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ КАЛИЕВЫХ КАНАЛОВ, АКТИВИРУЕМЫХ G-БЕЛКАМИ

Kir3.1/3.4 в сердце

Выделение ацетилхолина терминалями блуждающего нерва активирует G_i -сопряженный M_2 -холинорецептор и снижает частоту сердечных сокращений. Помимо понижения концентрации цАМФ, этот эффект вызван усилением K^+ -проводимости через K_G -каналы, также называемые K_{ACH} , в синоатриальном узле (см. Рисунок 18). Эти каналы состоят из субъединиц Kir3.1/3.4, и у нокаутных по Kir3.4 мышей K^+ -ток внутреннего выпрямления в ответ на стимуляцию ацетилхолином отсутствует [41]. В покое сердечный ритм у этих мышей был в норме [41] или несколько повышен [42], однако в ответ на парасимпатическую стимуляцию у них не наблюдалась брадикардия. Кроме того, у нокаутных мышей пропала вариабельность сердечного ритма, которая в норме отражает баланс между парасимпатическими и симпатическими влияниями [43].

Помимо ацетилхолина вызывать брадикардию может также аденозин, связываясь с A_1 -пуринергическими рецепторами (каскад аналогичен тому, что представлен на Рисунке 18) [44].

Kir3.x в мозге

K_G -каналы в мозге расположены как на пресинаптических, так и на постсинаптических мембранах [45]. Открытие постсинаптических K_G -каналов создает медленные (в отличие от быстрых, вызванных активацией ионотропных рецепторов) тормозные постсинаптические потенциалы (ТПСП) и

²Родерик МакКиннон стал лауреатом Нобелевской премия по химии совместно с Питером Агре за открытие трехмерной молекулярной структуры бактериального калиевого канала и исследование природы его селективности.

снижает возбудимость постсинаптической клетки. В мозге представлен весь спектр известных гомо- и гетеромерных K_C -каналов, однако различные комбинации распределены между разными отделами мозга и типами нейронов. Сложные и перекрывающиеся паттерны экспрессии субъединиц создают разнообразие функций K_C -каналов в мозге, возможности для их тонкой регуляции и дополнительный уровень устойчивости к нарушениям. Kir3.1, Kir3.2 и Kir3.3 экспрессируются во многих областях мозга, а Kir3.4 отличается более узкой локализацией [45].

Данные, полученные на мышах с пониженной экспрессией Kir3.2, показали, что Kir3.2 участвует в генерации ТПСП в нейронах гиппокампа и мозжечка [46, 47], а у *Kcnj6*^{-/-} мышей снижен судорожный порог [46].

Kcnj9^{-/-} мыши не имеют значительных нарушений и кажутся здоровыми [48], однако Kir3.3 все же участвует в генерации ТПСП. Так, в нейронах голубого пятна присутствуют Kir3.1, Kir3.2 и Kir3.3 [19, 49]. В этих нейронах мет-энкефалин через μ -опиоидные рецепторы вызывает гиперполяризацию мембраны [50–52]. У *Kcnj6*^{-/-} (нокаутных по Kir3.2) мышей гиперполяризация снижена на 40 % по сравнению с мышами дикого типа, а у двойного нокаута *Kcnj6*^{-/-/9}^{-/-} — на 80 % [48], остаточный ответ скорее всего опосредован α AMФ-зависимыми катионными каналами. Такие результаты можно объяснить присутствием гетеромеров Kir3.1/3.2 и Kir3.1/3.3, и при нокауте Kir3.2 или Kir3.3 оставшаяся изоформа компенсирует дефект, что свидетельствует в пользу существования Kir3.1/3.3 гетеромеров *in vivo*, которые в экспериментальных системах экспрессии нефункциональны [24, 25]. Похожие результаты были получены на нейронах зоны CA1 гиппокампа, в которых агонисты G_i -сопряженных GABA_B-рецепторов (ГАМК и баклофен) вызывают ТПСП через K_C -каналы [53].

Kir3.1, 3.2 и 3.3 в системе подкрепления

Вещества, вызывающие аддикции, захватывают механизмы синаптической пластичности, в нормальных условиях используемые организмом в различных адаптивных процессах. Ключевую роль в системе подкрепления играет вентральная область покрышки (VTA — *ventral tegmental area*), в которой есть дофаминергические и ГАМК-ергические нейроны. Дофаминергические проекции из VTA направляются в прилежащее ядро (NAcc), медиальную префронтальную кору (mPFC) и другие области, связанные с обучением и вознаграждением (так называемый мезолимбический путь). Терминалы ГАМК-ергических нейронов оканчиваются в том числе на дендритах дофаминергических клеток, и их сигнал ингибирует высвобождение дофамина (см. Рисунок 19; на русском языке о «системе вознаграждения» можно почитать на сайте [54]). В системе подкрепления Kir3.2/Kir3.3 опосредует тормозящие эффекты GABA_B и D₂R и участвуют в процессах синаптической пластичности и развитии аддикций.

В дофаминергических нейронах VTA-токи через GIRK-каналы, вызванные стимуляцией GABA_B-рецепторов ($I_{GABABR-GIRK}$), чувствительны к характеру активности нейронов. Залповая активность (5 стимулов по 20 Гц, каждый 500 мс в течение пяти минут) ведет к усилению $I_{GABABR-GIRK}$ а тоническая (2 Гц в течение 2,5 минут) снижает $I_{GABABR-GIRK}$. Подобные вариации амплитуды медленных ТПСП свидетельствуют об изменении возбудимости нейрона в зависимости от паттерна его активности [55].

Эффекты веществ, вызывающих зависимость, сходятся на повышении уровня дофамина в VTA, NAcc и mPFC [56–58]. Так, опиоиды через μ -рецепторы тормозят секрецию ГАМК в ГАМК-ергических нейронах ростромедиального ядра покрышки и VTA, что приводит к снятию ингибирования с дофаминергических нейронов и усилению выделения дофамина [59, 60] (далее этот механизм обсуждается подробнее). Амфетамин и метамфетамин поступают в синаптические терминалы и обращают транспорт дофамина из везикул в цитоплазму [61], кокаин блокирует обратный захват дофамина через DAT (дофаминовый транспортер, является к тому же маркером дофаминергических нейронов) в синапсах нейронов VTA [62, 63] и повышает уровень дофамина в областях мозга, получающих дофаминергические входы из VTA (например, NAcc), а также в самой VTA. Как в большинстве химических синапсов, здесь существует механизм отрицательной обратной связи, контролирующей высвобождение дофамина: это происходит путем активации D₂-ауторецепторов на терминалах нейронов VTA. Аксоны ГАМК-ергических нейронов активируют GABA_BR на нейронах VTA, что в сумме ведет к ингибированию этих нейронов через каналы GIRK, связанные с G_i -сопряженными рецепторами [64]; это, в свою очередь, тормозит локомоторную активность. Хроническое воздействие кокаина ослабляет передачу сигнала через тормозные GPCR, тем самым вызывая сенсibilизацию, в развитии которой также участвуют каналы GIRK [65, 66].

Этанол повышает активность дофаминергических нейронов VTA через различные молекулярные мишени [67], в число которых входят и каналы GIRK. Было показано, что этанол способствует открытию GIRK независимо от G-белков [68].

Роль каналов Kir3.x в развитии аддикций изучают с помощью нокаутных моделей на грызунах. Результаты, полученные на тотальных нокаутах по отдельным субъединицам Kir3.x, свидетельствуют о сложных взаимодействиях этих субъединиц в различных структурах системы подкрепления. Одним из подходов к изучению эффектов психостимуляторов на животных служит измерение локомоторной сенсibilизации — усиления стимулирующего локомоторную активность эффекта кокаина и других психостимуляторов при каждом повторном применении. Грызунам вводят психостимулятор в течение нескольких дней и регистрируют общую дистанцию, которую животное прошло за период наблюдений. В норме на пятый день введения животные сенсibilизируются и проходят значительно большее расстояние, чем в первый день инъекций.

Когда этим методом исследовали *Kcnj6*^{-/-} и *Kcnj9*^{-/-} мышей, а также двойных нокауты, у которых отсутствуют соответственно Kir3.2 и Kir3.3, выяснилось, что нокаут Kir3.2 усиливает локомоторную сенсibilизацию в ответ на инъекции кокаина, в то время как *Kcnj9*^{-/-} мыши и мыши с двойным нокаутом *Kcnj6*^{-/-/9}^{-/-} по данному показателю не отличались от мышей дикого типа. В экспериментах с произвольным потреблением кокаина животные с одиночным нокаутом по Kir3.2 и Kir3.3 употребляли меньше, чем мыши дикого типа, а животные с двойным нокаутом употребляли количество кокаина, промежуточное между таковым у мышей с одиночным нокаутом и у мышей дикого типа [69].

В работе с нокаутами Kir3.1 и Kir3.2 авторы также обнаружили, что у нокаутных животных выявляется более сильная реакция на кокаин, чем у мышей дикого типа. Затем, пред-

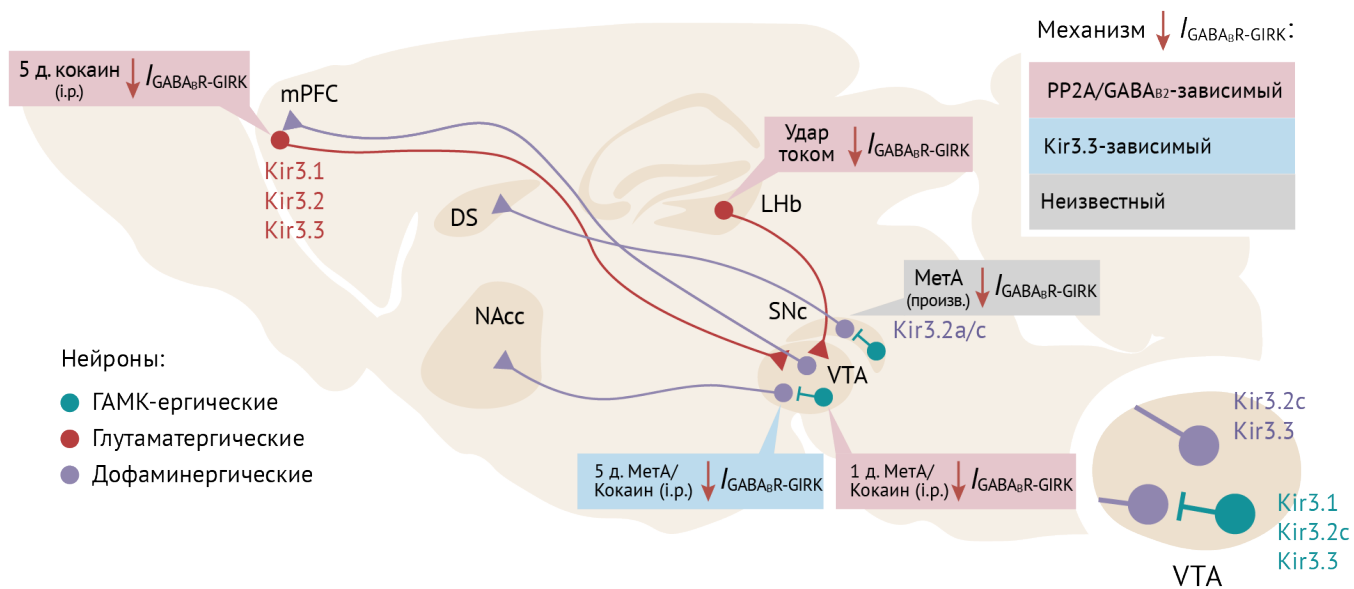


Рисунок 19 | Области мозга и типы нейронов, в которых воздействие психостимуляторов снижает $I_{GABA_{B}R-GIRK}$ [65]. VTA содержит дофаминергические и ГАМК-ергические нейроны, которые экспрессируют Kir3.2x/Kir3.3 и Kir3.1, 3.2 и 3.3 соответственно [82]. В глутаматергических нейронах mPFC экспрессируются Kir3.1, 3.2 и 3.3 [83]; дофаминергические нейроны SNc (компактная часть черной субстанции) экспрессируют Kir3.2a/c [18]. Снижение $I_{GABA_{B}R-GIRK}$ в глутаматергических нейронах mPFC и LHb, а также в ГАМК-ергических нейронах VTA происходит по PP2A-GABA_{B2}-зависимому механизму. В дофаминергических нейронах VTA интернализация зависит от наличия Kir3.3 [76]. Метамфетамин вызывает снижение $I_{GABA_{B}R-GIRK}$ в дофаминергических нейронах SNc, но механизм не ясен [84]. Сокращения: DS — дорсальный стриатум, МетА — метамфетамин; i.p. — внутривенное введение.

положив, что такие эффекты должны быть вызваны изменениями в дофаминергических нейронах VTA, авторы измерили $I_{GABA_{B}R-GIRK}$ (при стимуляции GABA_B-рецепторов баклофеном) в этих нейронах у *Kcnj3^{-/-}* мышей и не нашли отличий по сравнению с мышами дикого типа (что согласуется с отсутствием Kir3.1 в этих нейронах), в то время как у *Kcnj6^{-/-}* мышей инъекции кокаина снижали $I_{GABA_{B}R-GIRK}$ [70]. Эти результаты свидетельствуют о том, что влияние KG-каналов на эффекты, вызываемые психостимуляторами, должно реализовываться не только в дофаминергических нейронах VTA, но и в других областях мозга [64].

Результаты, полученные на животных с тотальными нокаутами, не позволяют прояснить детали механизма модуляции эффектов психостимуляторов каналами Kir3.x. Примерно столь же сложны для интерпретации результаты исследования воздействия других аддиктивов. Поэтому исследователи переходят на тканеспецифичные нокаутные модели, основанные на системе Cre-lox. Эта система работает следующим образом: трансгенных мышей, у которых рекомбиназа Cre экспрессируется под контролем какого-либо промотора, скрещивают с мышами, у которых таргетный ген окружен сайтами loxP — специальными последовательностями ДНК, которые узнает и вырезает рекомбиназа Cre. Так можно вызвать нокаут таргетного гена в дофаминергических нейронах (DAT-Cre вырезает ген только в нейронах, экспрессирующих транспортер дофамина DAT, то есть в дофаминергических нейронах). Кроме этого, можно использовать аденовирусы, содержащие ген рекомбиназы Cre, и инъектировать их в определенные области мозга мышей. В этом случае можно ограничить удаление гена какой-то определенной небольшой областью мозга.

Нокаут Kir3.2 в дофаминергических нейронах, как и тотальный нокаут *Kcnj6^{-/-}*, усиливает локомоторную сенсibilизацию в ответ на кокаин, а также увеличивает количество произвольно потребленного мышью кокаина [71]. Однако

нокаут во всех дофаминергических нейронах не позволяет локализовать наблюдаемые эффекты, поскольку, например, дофаминергические нейроны компактной части черной субстанции не только регулируют локомоцию, но и участвуют в подкреплении [72, 73].

Локализация каналов Kir3.2c/3 на плазматической мембране находится под контролем белка SNX27 [26], и нокаут соответствующего гена в дофаминергических нейронах (при этом количество GIRK каналов на мембране снижается) ведет к усилению реакции на однократное введение кокаина [74], снижая торможение через GABA_BR. Локомоторная сенсibilизация в ответ на хроническое введение кокаина у этих мышей также усиливается. Гиперэкспрессия в этих нейронах GIRK2a, который не содержит PDZ-связывающего мотива и не чувствителен к SNX27, возвращает фенотип к норме [75]. Интернализация каналов GIRK в дофаминергических нейронах VTA под действием метамфетамина зависит от присутствия в составе этих каналов субъединицы Kir3.3 и не зависит от дефосфорилирования GABA_B (см. ниже): у *Kcnj9^{-/-}* мышей не наблюдалось снижения $I_{GABA_{B}R-GIRK}$ после введения метамфетамина в течение пяти дней. Авторы предполагают, что взаимодействие Kir3.2c/3 с SNX27 может быть опосредовано именно субъединицей Kir3.3 [76].

Таким образом, можно предложить модель, согласно которой при хроническом воздействии кокаина на мембране дофаминергических нейронов понижается количество каналов GIRK за счет снижения экспрессии SNX27 [77], уменьшается чувствительность нейронов к тормозным медиаторам и формируется сенсibilизация.

Психостимуляторы влияют и на каналы GIRK в других нейронах и отделах мозга (см. Рисунок 19). В ГАМК-ергических нейронах VTA кокаин и метамфетамин вызвали снижение $I_{GABA_{B}R-GIRK}$ путем интернализации GABA_{B1} и GIRK2, что происходило совместно с дефосфорилированием GABA_{B2} по

остатку S783 ($GABA_B$ рецептор — это гетеродимер, состоящий из субъединиц $GABA_{B1}$ и $GABA_{B2}$; фосфорилирование $GABA_{B2}^{S783}$ способствует локализации рецепторного комплекса на плазматической мембране). Ингибирование фосфатазы PP2A оксадевой кислотой в остром эксперименте повысило $I_{GABABR-GIRK}$ до нормального уровня [78]. Снижение ингибирования в ГАМК-ергических нейронах VTA в ответ на психостимуляторы может служить адаптацией к повышенной возбудимости дофаминергических нейронов [79].

Нейроны LHb (латерального ядра поводка) активируются стимулами, вызывающими аверсию (отвращение), и участвуют в формировании абстинентного синдрома при прекращении приема кокаина [80]. У мышей, которых подвергли ударам тока (этот протокол вызывает симптомы депрессии), был снижен $I_{GABABR-GIRK}$. Эти симптомы ослабли оксадевой кислотой, что может свидетельствовать в пользу того же механизма, который описан для ГАМК-ергических нейронов VTA [81].

Этанол

Каналы GIRK влияют на поведение, связанное с потреблением не только психостимуляторов, но и других аддиктивов, например, этанола. $Kcni6^{-/-}$ мыши поглощали больше этанола по сравнению с контрольной группой мышей дикого типа; при этом у них была повышена активность в открытом поле. Этанол не оказывал на таких мышей столь сильного анксиолитического действия, как на мышей дикого типа, и симптомы отмены были ослаблены [85]. Kir3.3 снижает потребление алкоголя: нокаутные животные поглощали больше этанола, и у них был слабее выражен синдром отмены [86]. После инъекция вируса, содержащего ген $Kcni9$, в VTA фенотип нокаутных мышей вернулся к нормальному [86].

Опиоиды

Ранее предполагали, что активация тока через K_G -каналы при стимуляции μ -опиоидных рецепторов ГАМК-ергических нейронов в VTA и ростромедиальном ядре покрышки усиливает активность дофаминергических нейронов, устраняя их торможение [59, 60]. Однако результаты исследования, выполненного на $GAD2-Cre^{+/-}/Kcni6^{lox/lox}$ мышях, у которых отсутствует экспрессия Kir3.2 только в ГАМК-ергических нейронах, противоречат этому представлению. У нокаутных мышей повышение активности ГАМК-ергических нейронов не сказалось на локомоторной реакции на введение морфина (локомоторная сенсibilизация оценивалась так же, как и в описанных выше исследованиях эффектов психостимуляторов), в то время как нокаут в дофаминергических нейронах усилил локомоторный ответ на морфин [87]. Эти результаты говорят о том, что Kir3.2-содержащие каналы опосредуют эффекты морфина, модулируя активность дофаминергических, но не ГАМК-ергических нейронов, однако другие эффекты μ -опиоидных рецепторов могут оставаться в рамках канонического механизма.

Kir3.4 в гиппокампе и центрах регуляции голода и насыщения

Kir3.4 в гиппокампе экспрессируется слабо [88, 89], однако у $Kcni5^{-/-}$ мышей нарушены пространственное обучение и память [88].

Особенно высока экспрессия Kir3.4 в вентромедиальном гипоталамусе, в вентромедиальном (VMN) и аркуатном ядрах [42]. В частности, гипоталамус участвует в регуляции

энергообмена, и вентромедиальный гипоталамус считают «центром насыщения» [90]. VMN и POMC (проопиомеланокортиновые) нейроны аркуатного ядра — это основные нервные центры насыщения, стимулирующие трату энергии. И наоборот, орексиновые нейроны латерального гипоталамуса и экспрессирующие NPY (нейропептид Y) нейроны аркуатного ядра представляют собой «центр голода» и запускают потребление пищи [91] (подробнее см. про регуляцию пищевого поведения). Эти наблюдения послужили основой для гипотезы о роли Kir3.4 в регуляции энергообмена.

Действительно, нокаутные по Kir3.4 взрослые мыши набирали лишний вес за счет увеличения потребления пищи и снижения трат энергии при физической активности даже несмотря на тахикардию и увеличение температуры тела в покое, вызванные отсутствием K_{ACh} -каналов в сердце. Кроме того, нокаутные мыши лучше справлялись с задачами на инструментальное обучение с пищевым подкреплением — возможно, за счет модуляции активности нейронов в VTA Kir3.4-содержащими каналами, либо за счет проекций из VMN в VTA и прилежащее ядро [42].

Kir3.x в поджелудочной железе

Секреция инсулина и глюкагона островками Лангерганса не только зависит от концентрации глюкозы в плазме крови, но и модулируется различными нейромедиаторами и гормонами. Передача сигналов от некоторых рецепторов этих лигандов опосредована гиперполяризацией мембраны при открытии K_G -каналов. Так, в α - и в β -клетках экспрессируются Kir3.2c и Kir3.4 [92–94], гомо- и гетеромерные сочетания которых образуют K_G -каналы поджелудочной железы. Катехоламины через α_2 -адренорецепторы ингибируют секрецию инсулина β -клетками, а соматостатин тормозит секрецию как инсулина, так и глюкагона [95–98].

МУТАЦИИ KIR3.X/GIRK

Мутации Kir3.2/GIRK2: синдром Кеппена-Любински

Синдром Кеппена-Любински — это крайне редкая каналопатия, вызываемая гетерозиготными мутациями в селективном фильтре изоформы GIRK2 [99]. В медицинской литературе описано всего три случая этого синдрома [100–102].

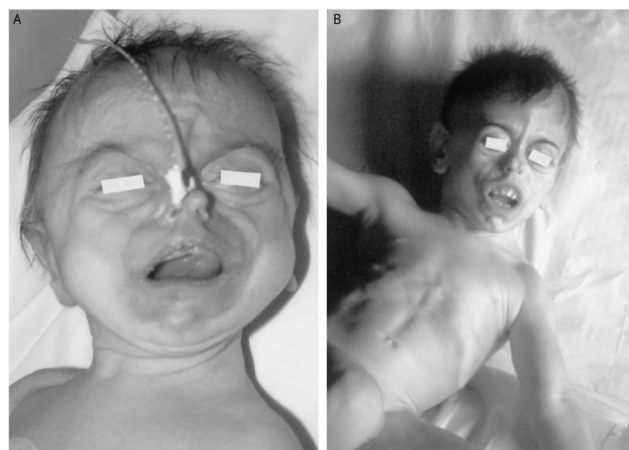


Рисунок 20 | Типичная внешность пациента с синдромом Кеппена-Любински
А. при рождении и В. в возрасте семи лет [99].

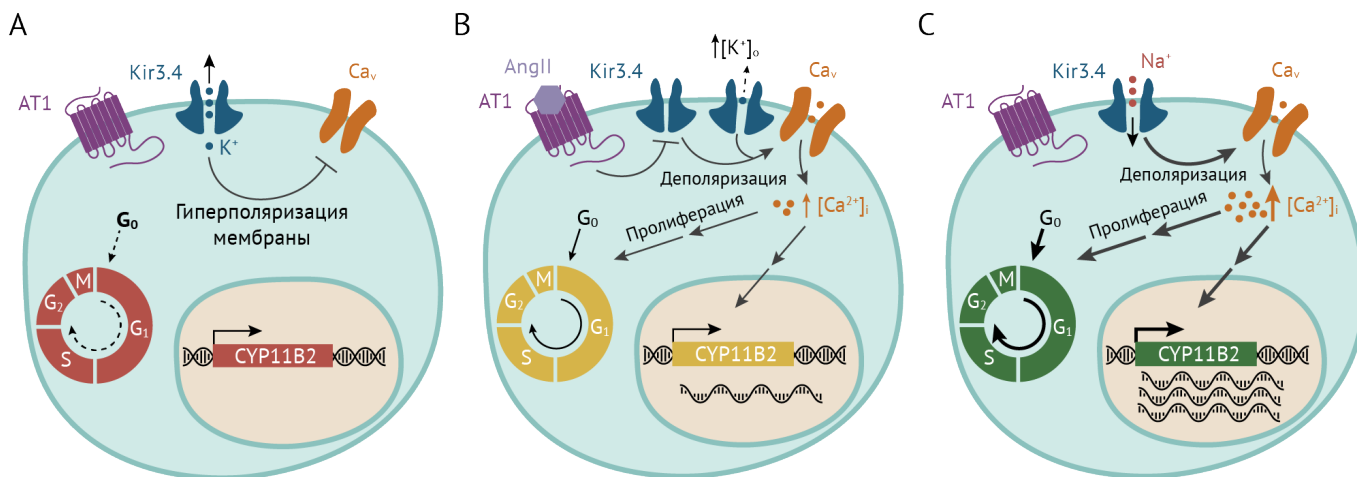


Рисунок 21 | Схема развития альдостеронизма, по Мулатеро с соавт. [104].

Мутантные каналы Kir3.4^{G151R}, Kir3.4^{T158A}, или Kir3.4^{L168R} проницаемы для натрия, и поступление Na⁺ в клетку ведет к хронической деполаризации и активации Ca_v-каналов. Повышенная [Ca²⁺]_i стимулирует экспрессию альдостеронсинтазы и пролиферацию клеток.

Их объединяют нормальные размеры тела при рождении с тяжелой задержкой роста и умственного развития впоследствии, липодистрофия с полным отсутствием подкожного жира на лице, специфические черты лица: узкая спинка носа и ноздри, натянутая верхняя губа, открытый рот, готическое небо, выступающие глаза в неглубоких глазницах. В более старшем возрасте тонус мышц конечностей повышен, сухожильные рефлексы усилены.

Все эти пациенты не связаны родством, но удивительно, что в двух случаях из трех возникли одинаковые делеции одной аминокислоты Thr152, а в третьем случае аминокислотная замена G1RК2^{Gly154Ser} идентична той, которая вызывает фенотип *weaver* (англ. «ткач») у мышей, впервые описанный в 1964 году [103]. Для этих мышей характерна атаксия из-за дегенерации клеток-зерен в мозжечке. Считается, что клетки мозжечка не дифференцируются и деградируют вследствие постоянной деполаризации, вызванной увеличенной проводимостью для Na⁺ у мутантного G1RК2^{Gly156Ser}.

Мутации Kir3.4: первичный гиперальдостеронизм

У пациентов с первичным гиперальдостеронизмом (синдромом Конна) были обнаружены мутации в гене *KCNJ5*, усиливающие проводимость канала для Na⁺. Такие мутации могут быть как генеративными — и тогда они вызывают раннюю гипертензию и гиперплазию коры надпочечников [104, 105], так и соматическими — в этом случае из мутантных клеток развивается производящая альдостерон аденома, и избыток альдостерона также ведет к гипернатриемии и гипертензии [106]. Механизм развития гиперальдостеронизма основан на том, что мутантный канал с нарушенным селективным фильтром пропускает Na⁺, мембрана деполаризуется, и мембранный потенциал достигает порогового для потенциалзависимых Ca²⁺-каналов значения. Активация Ca_v-каналов приводит к повышению [Ca²⁺]_i и усилению экспрессии альдостеронсинтазы. А поскольку повышение внутриклеточной концентрации Ca²⁺ стимулирует пролиферацию клеток, в случае соматических мутаций развивается гиперплазия коры надпочечников или аденома.

Мутации Kir3.4: синдром удлиненного интервала QT (LQT13)

Мутации в гене *KCNJ5* с утратой функции могут приводить к наследственному синдрому удлиненного интервала QT (OMIM: 613485) [107]. Утрата Kir3.4 в сердце затрудняет реполаризацию желудочков, что отражается на ЭКГ в виде удлинения QT. Однако распространенность среди пациентов с этим синдромом носителей мутаций в *KCNJ5*, вероятно, низка: до настоящего времени была обнаружена только две семьи с мутацией в Kir3.4 [107,108], а поиск среди 63 неродственных индивидов не дал результатов [109].

Источники:

- Morishige K.I. et al. Secretagogue-induced exocytosis recruits G protein-gated K⁺ channels to plasma membrane in endocrine cells // *J. Biol. Chem.* 1999. Vol. 274, № 12. P. 7969–7974.
- Oh U., Ho Y.K., Kim D. Modulation of the serotonin-activated K⁺ channel by G protein subunits and nucleotides in rat hippocampal neurons // *J. Membr. Biol.* 1995. Vol. 147, № 3. P. 241–253.
- Lacey M.G., Mercuri N.B., North R.A. On the potassium conductance increase activated by GABAB and dopamine D2 receptors in rat substantia nigra neurons // *J. Physiol.* 1988. Vol. 401, № 1. P. 437–453.
- Grudt T.J., Williams J.T. κ -Opioid receptors also increase potassium conductance. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1993. Vol. 90, № 23. P. 11429–11432.
- North R.A. et al. μ - and δ - receptors belong to a family of receptors that are coupled to potassium channels. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1987. Vol. 84, № 15. P. 5487–5491.
- Kubo Y. et al. Primary structure and functional expression of a rat G-protein-coupled muscarinic potassium channel // *Nature.* 1993. Vol. 364, № 6440. P. 802–806.
- Dasal N. et al. Atrial G protein-activated K⁺ channel: expression cloning and molecular properties. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1993. Vol. 90, № 21. P. 10235–10239.
- Krapivinsky G. et al. G $\beta\gamma$ binds directly to the G protein-gated K⁺ channel, IKACH // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270, № 49. P. 29059–29062.
- Wischmeyer E. et al. Subunit interactions in the assembly of neuronal Kir3.0 Inwardly rectifying K⁺ channels // *Mol. Cell. Neurosci.* 1997. Vol. 9, № 3. P. 194–206.
- Spauschus A. et al. A G-protein-activated inwardly rectifying K⁺ channel (GIRK4) from human hippocampus associates with other GIRK channels. // *J. Neurosci.* 1996. Vol. 16, № 3. P. 930–938.
- Philipson L.H. et al. Functional expression of an epitope-tagged G protein-coupled K⁺ channel (GIRK1) // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270, № 24. P. 14604–14610.
- Ma D. et al. Diverse trafficking patterns due to multiple traffic motifs in G protein-activated inwardly rectifying potassium channels from brain and heart // *Neuron.* 2002. Vol. 33, № 5. P. 715–729.
- Kennedy M.E., Nemeč J., Clapham D.E. Localization and interaction of epitope-tagged GIRK1 and CIR inward rectifier K⁺ channel subunits // *Neuropharmacology.* 1996. Vol. 35, № 7. P. 831–839.
- Lesage F. et al. Cloning provides evidence for a family of inward rectifier and G-protein coupled K⁺ channels in the brain // *FEBS Lett.* 1994. Vol. 353, № 1. P. 37–42.
- Inanobe A. et al. Molecular cloning and characterization of a novel splicing variant of the Kir3.2 subunit predominantly expressed in mouse testis // *J. Physiol.* 1999. Vol. 521, № 1. P. 19–30.
- Wickman K., Pu W.T., Clapham D.E. Structural characterization of the mouse GirK genes // *Gene.* 2002. Vol. 284, № 1–2. P. 241–250.
- Wei J. et al. Characterization of Murine GirK2 Transcript Isoforms: Structure and Differential Expression // *Genomics.* 2002. Vol. 51, № 3. P. 379–390.
- Inanobe A. et al. Characterization of G-Protein-Gated K⁺ Channels Composed of Kir3.2 Subunits in Dopaminergic Neurons of the Substantia Nigra // *J. Neurosci.* 1999. Vol. 19, № 3. P. 1006–1017.
- Karschin C. et al. IRK(1–3) and GIRK(1–4) Inwardly Rectifying K⁺ Channel mRNAs Are Differentially Expressed in the Adult Rat Brain // *J. Neurosci.* 1996. Vol. 16, № 11. P. 3559–3570.
- Liao Y.J., Jan Y.N., Jan L.Y. Heteromultimerization of G-Protein-Gated Inwardly Rectifying K⁺ Channel Proteins GIRK1 and GIRK2 and Their Altered Expression in weaver Brain // *J. Neurosci.* 1996. Vol. 16, № 22. P. 7137–7150.
- Kobayashi T. et al. Molecular Cloning of a Mouse G-Protein-Activated K⁺ Channel (mGIRK1) and Distinct Distributions of 3 GIRK (GIRK1, 2 and 3) mRNAs in Mouse Brain // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995. Vol. 208, № 3. P. 1166–1173.
- Chung H.J. et al. Neuronal activity regulates phosphorylation-dependent surface delivery of G protein-activated inwardly rectifying potassium channels // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2009. Vol. 106, № 2. P. 629–634.
- Jelacic T.M., Sims S.M., Clapham D.E. Functional expression and characterization of G-protein-gated inwardly rectifying K⁺ channels containing GIRK3 // *J. Membr. Biol.* 1999. Vol. 169, № 2. P. 123–129.
- Schoots O. et al. Co-expression of Human Kir3 Subunits Can Yield Channels with Different Functional Properties // *Cell. Signal.* 1999. Vol. 11, № 12. P. 871–883.
- Lesage F. et al. Molecular Properties of Neuronal G-protein-activated Inwardly Rectifying K⁺ Channels // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270, № 48. P. 28660–28667.
- Lunn M.-L. et al. A unique sorting nexin regulates trafficking of potassium channels via a PDZ domain interaction // *Nat. Neurosci.* 2007. Vol. 10, № 10. P. 1249–1259.
- Jelacic T.M. et al. Functional and biochemical evidence for G-protein-gated inwardly rectifying K⁺ (GIRK) channels composed of GIRK2 and GIRK3 // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275, № 46. P. 36211–36216.
- Krapivinsky G. et al. The G-protein-gated atrial K⁺ channel IKACH is a heteromultimer of two inwardly rectifying K⁺-channel proteins // *Nature.* 1995. Vol. 374, № 6518. P. 135–141.
- Tucker S.J., Pessia M., Adelman J.P. Muscarine-gated K⁺ channel: subunit stoichiometry and structural domains essential for G protein stimulation // *Am. J. Physiol. Circ. Physiol.* 1996. Vol. 271, № 1. P. H379–H385.
- Silverman S.K., Lester H.A., Dougherty D.A. Subunit stoichiometry of a heteromultimeric G protein-coupled inward-rectifier K⁺ channel // *J. Biol. Chem.* 1996. Vol. 271, № 48. P. 30524–30528.
- Corey S. et al. Number and Stoichiometry of Subunits in the Native Atrial G-protein-gated K⁺ Channel, IKACH // *Biochemistry.* 1998. Vol. 37, № 9. P. 5271–5278.
- Corey S., Clapham D.E. Identification of native atrial G-protein-regulated inwardly rectifying K⁺ (GIRK4) channel homomultimers // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273, № 42. P. 27499–27504.
- Leopoldt D., Harteneck C., Nürnberg B. G Proteins endogenously expressed in Sf 9 cells: Interactions with mammalian histamine receptors // *Naunyn. Schmiedebergs. Arch. Pharmacol.* 1997. Vol. 356, № 2. P. 216–224.
- Wang W., Whorton M.R., MacKinnon R. Quantitative analysis of mammalian GIRK2 channel regulation by G proteins, the signaling lipid PIP2 and Na⁺ in a reconstituted system // *Elife.* 2014. Vol. 3. P. e03671.
- Peleg S. et al. Gai controls the gating of the G protein-activated K⁺ channel, GIRK // *Neuron.* 2002. Vol. 33, № 1. P. 87–99.
- Riven I., Iwanir S., Reuveny E. GIRK Channel Activation Involves a Local Rearrangement of a Preformed G Protein Channel Complex // *Neuron.* 2006. Vol. 51, № 5. P. 561–573.
- Digby G.J., Sethi P.R., Lambert N.A. Differential dissociation of G protein heterotrimer // *J. Physiol.* 2008. Vol. 586, № 14. P. 3325–3335.
- Touhara K.K., MacKinnon R. Molecular basis of signaling specificity between GIRK channels and GPCRs // *Elife.* 2018. Vol. 7. P. 8–10.
- Ho I.H.M., Murrell-Lagnado R.D. Molecular mechanism for sodium-dependent activation of G protein-gated K⁺ channels // *J. Physiol.* 1999. Vol. 520, № 3. P. 645–651.
- Whorton M.R., MacKinnon R. Crystal structure of the mammalian GIRK2 K⁺ channel and gating regulation by G proteins, PIP2, and sodium // *Cell.* 2011. Vol. 147, № 1. P. 199–208.
- Wickman K. et al. Abnormal heart rate regulation in GIRK4 knockout mice // *Neuron.* 1998. Vol. 20, № 1. P. 103–114.
- Perry C.A. et al. Predisposition to late-onset obesity in GIRK4 knockout mice // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008. Vol. 105, № 23. P. 8148–8153.
- Bettahi I. et al. Contribution of the Kir3.1 subunit to the muscarinic-gated atrial potassium channel IKACH // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277, № 50. P. 48282–48288.
- Kurachi Y., Nakajima T., Sugimoto T.N. On the mechanism of activation of muscarinic K⁺ channels by adenosine in isolated atrial cells: involvement of GTP-binding proteins // *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.* 1986. Vol. 407, № 3. P. 264–274.
- Luján R., Aguado C. Localization and Targeting of GIRK Channels in Mammalian Central Neurons // *Int. Rev. Neurobiol.* 2015. Vol. 123. P. 161–200.
- Signorini S. et al. Normal cerebellar development but susceptibility to seizures in mice lacking G protein-coupled, inwardly rectifying K⁺ channel GIRK2. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1997. Vol. 94, № 3. P. 923–927.
- Lüscher C. et al. G protein-coupled inwardly rectifying K⁺ channels (GIRKs) mediate postsynaptic but not presynaptic transmitter actions in hippocampal neurons // *Neuron.* 1997. Vol. 19, № 3. P. 687–695.
- Torreclilla M. et al. G-protein-gated potassium channels containing Kir3.2 and Kir3.3 subunits mediate the acute inhibitory effects of opioids on locus ceruleus neurons // *J. Neurosci.* 2002. Vol. 22, № 11. P. 4328–4334.
- Chen S.C. et al. Developmental expression of the GIRK family of inward rectifying potassium channels: Implications for abnormalities in the weaver mutant mouse // *Brain Res.* 1997. Vol. 778, № 2. P. 251–264.
- Pepper C., Henderson G. Opiates and opioid peptides hyperpolarize locus coeruleus neurons in vitro // *Science (80-.).* 1980. Vol. 209, № 4454. P. 394–395.
- Williams J.T., Egan T.M., North R.A. Enkephalin opens potassium channels on

- mammalian central neurones // *Nature*. 1982. Vol. 299, № 5878. P. 74–77.
52. Williams J.T., North R.A. Opiate-receptor interactions on single locus coeruleus neurones // *Mol. Pharmacol.* 1984. Vol. 26, № 3. P. 489–497.
 53. Koyrakh L. et al. Molecular and Cellular Diversity of Neuronal G-Protein-Gated Potassium Channels // *J. Neurosci.* 2005. Vol. 25, № 49. P. 11468–11478.
 54. https://elementy.ru/novosti_na...
 55. Lalive A.L. et al. Firing Modes of Dopamine Neurons Drive Bidirectional GIRK Channel Plasticity // *J. Neurosci.* 2014. Vol. 34, № 15. P. 5107–5114.
 56. Di Chiara G., Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1988. Vol. 85, № 14. P. 5274–5278.
 57. Moghaddam B., Bunney B.S. Differential effect of cocaine on extracellular dopamine levels in rat medial prefrontal cortex and nucleus accumbens: Comparison to amphetamine // *Synapse*. 1989. Vol. 4, № 2. P. 156–161.
 58. Bradberry C.W., Roth R.H. Cocaine increases extracellular dopamine in rat nucleus accumbens and ventral tegmental area as shown by in vivo microdialysis // *Neurosci. Lett.* 1989. Vol. 103, № 1. P. 97–102.
 59. Johnson S.W., North R.A. Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons. // *J. Neurosci.* 1992. Vol. 12, № 2. P. 483–488.
 60. Lüscher C., Ungless M.A. The Mechanistic Classification of Addictive Drugs // *PLoS Med.* 2006. Vol. 3, № 11. P. e437.
 61. Sulzer D. et al. Amphetamine redistributes dopamine from synaptic vesicles to the cytosol and promotes reverse transport. // *J. Neurosci.* 1995. Vol. 15, № 5 Pt 2. P. 4102–4108.
 62. Chen R. et al. Abolished cocaine reward in mice with a cocaine-insensitive dopamine transporter // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2006. Vol. 103, № 24. P. 9333–9338.
 63. Rocha B.A. Stimulant and reinforcing effects of cocaine in monoamine transporter knockout mice // *Eur. J. Pharmacol.* 2003. Vol. 479, № 1–3. P. 107–115.
 64. Arora D. et al. Altered neurotransmission in the mesolimbic reward system of Girk-/- mice // *J. Neurochem.* 2010. Vol. 114, № 5. P. 1487–1497.
 65. Rifkin R.A., Moss S.J., Slesinger P.A. G Protein-Gated Potassium Channels: A Link to Drug Addiction // *Trends Pharmacol. Sci.* 2017. Vol. 38, № 4. P. 378–392.
 66. Hearing M.C., Zink A.N., Wickman K. Cocaine-induced adaptations in metabotropic inhibitory signaling in the mesocorticolimbic system // *Rev. Neurosci.* 2012. Vol. 23, № 4. P. 325–351.
 67. Morikawa H., Morrisett R.A. Ethanol Action on Dopaminergic Neurons in the Ventral Tegmental Area. Interaction with Intrinsic Ion Channels and Neurotransmitter Inputs // *International Review of Neurobiology*. 2010. Vol. 91, № C. 235–288 p.
 68. Kobayashi T. et al. Ethanol opens G-protein-activated inwardly rectifying K+ channels // *Nat. Neurosci.* 1999. Vol. 2, № 12. P. 1091–1097.
 69. Morgan A.D. et al. Decreased cocaine self-administration in Kir3 potassium channel subunit knockout mice // *Neuropsychopharmacology*. 2003. Vol. 28, № 5. P. 932–938.
 70. Arora D. et al. Acute Cocaine Exposure Weakens GABAB Receptor-Dependent G-Protein-Gated Inwardly Rectifying K+ Signaling in Dopamine Neurons of the Ventral Tegmental Area // *J. Neurosci.* 2011. Vol. 31, № 34. P. 12251–12257.
 71. McCall N.M. et al. Selective Ablation of GIRK Channels in Dopamine Neurons Alters Behavioral Effects of Cocaine in Mice // *Neuropsychopharmacology*. 2017. Vol. 42, № 3. P. 707–715.
 72. Rossi M.A. et al. Operant Self-Stimulation of Dopamine Neurons in the Substantia Nigra // *PLoS One*. 2013. Vol. 8, № 6. P. 1–7.
 73. Ilango A. et al. Similar Roles of Substantia Nigra and Ventral Tegmental Dopamine Neurons in Reward and Aversion // *J. Neurosci.* 2014. Vol. 34, № 3. P. 817–822.
 74. Munoz M.B., Slesinger P.A. Sorting Nexin 27 Regulation of G Protein-Gated Inwardly Rectifying K+ Channels Attenuates In Vivo Cocaine Response // *Neuron*. 2014. Vol. 82, № 3. P. 659–669.
 75. Rifkin R.A. et al. GIRK currents in VTA dopamine neurons control the sensitivity of mice to cocaine-induced locomotor sensitization // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2018. Vol. 115, № 40. P. E9479–E9488.
 76. Munoz M.B. et al. A Role for the GIRK3 Subunit in Methamphetamine-Induced Attenuation of GABAB Receptor-Activated GIRK Currents in VTA Dopamine Neurons // *J. Neurosci.* 2016. Vol. 36, № 11. P. 3106–3114.
 77. Kajii Y. et al. A developmentally regulated and psychostimulant-inducible novel rat gene mrt1 encoding PDZ-PX proteins isolated in the neocortex // *Mol. Psychiatry*. 2003. Vol. 8, № 4. P. 434–444.
 78. Padgett C.L. et al. Methamphetamine-Evoked Depression of GABAB Receptor Signaling in GABA Neurons of the VTA // *Neuron*. 2012. Vol. 73, № 5. P. 978–989.
 79. Ungless M.A. et al. Single cocaine exposure in vivo induces long-term potentiation in dopamine neurons // *Nature*. 2001. Vol. 411, № 6837. P. 581–583.
 80. Meye F.J. et al. Cocaine-evoked negative symptoms require AMPA receptor trafficking in the lateral habenula // *Nat. Neurosci.* 2015. Vol. 18, № 3. P. 376–380.
 81. Lecca S. et al. Rescue of GABAB and GIRK function in the lateral habenula by protein phosphatase 2A inhibition ameliorates depression-like phenotypes in mice // *Nat. Med.* 2016. Vol. 22, № 3. P. 254–261.
 82. Cruz H.G. et al. Bi-directional effects of GABAB receptor agonists on the mesolimbic dopamine system // *Nat. Neurosci.* 2004. Vol. 7, № 2. P. 153–159.
 83. Hearing M. et al. Repeated Cocaine Weakens GABAB-Girk Signaling in Layer 5/6 Pyramidal Neurons in the Prelimbic Cortex // *Neuron*. 2013. Vol. 80, № 1. P. 159–170.
 84. Sharpe A.L. et al. Methamphetamine Self-Administration in Mice Decreases GIRK Channel-Mediated Currents in Midbrain Dopamine Neurons // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2015. Vol. 18, № 5. P. 1–10.
 85. Blednov Y. et al. Potassium channels as targets for ethanol: studies of G-protein-coupled inwardly rectifying potassium channel 2 (GIRK2) null mutant mice. 2001. Vol. 298, № 2. P. 521–530.
 86. Herman M.A. et al. GIRK3 gates activation of the mesolimbic dopaminergic pathway by ethanol // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2015. Vol. 112, № 22. P. 7091–7096.
 87. Kotecki L. et al. GIRK Channels Modulate Opioid-Induced Motor Activity in a Cell Type- and Subunit-Dependent Manner // *J. Neurosci.* 2015. Vol. 35, № 18. P. 7131–7142.
 88. Wickman K. et al. Brain localization and behavioral impact of the G-protein-gated K+ channel subunit GIRK4 // *J. Neurosci.* 2000. Vol. 20, № 15. P. 5608–5615.
 89. Iizuka M. et al. Localization of a G-protein-coupled inwardly rectifying K+ channel, CIR, in the rat brain // *Neuroscience*. 1997. Vol. 77, № 1. P. 1–13.
 90. King B.M. The rise, fall, and resurrection of the ventromedial hypothalamus in the regulation of feeding behavior and body weight // *Physiol. Behav.* 2006. Vol. 87, № 2. P. 221–244.
 91. Gao Q., Horvath T.L. Neuronal control of energy homeostasis // *FEBS Lett.* 2008. Vol. 582, № 1. P. 132–141.
 92. Yoshimoto Y. et al. Somatostatin induces hyperpolarization in pancreatic islet α cells by activating a G protein-gated K+ channel // *FEBS Lett.* 1999. Vol. 444, № 2–3. P. 265–269.
 93. Bond C.T. et al. Cloning and functional expression of the cDNA encoding an inwardly-rectifying potassium channel expressed in pancreatic β -cells and in the brain // *FEBS Lett.* 1995. Vol. 367, № 1. P. 61–66.
 94. Ferrer J. et al. Pancreatic Islet Cells Express a Family of Inwardly Rectifying K+ Channel Subunits Which Interact to Form G-protein-activated Channels // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270, № 44. P. 26086–26091.
 95. Abel K.B., Lehr S., Ullrich S. Adrenaline-, not somatostatin-induced hyperpolarization is accompanied by a sustained inhibition of insulin secretion in INS-1 cells. Activation of sulphonylurea K+ATP channels is not involved // *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.* 1996. Vol. 432, № 1. P. 89–96.
 96. Iwanir S., Reuveny E. Adrenaline-induced hyperpolarization of mouse pancreatic islet cells is mediated by G protein-gated inwardly rectifying potassium (GIRK) channels // *Pflügers Arch. - Eur. J. Physiol.* 2008. Vol. 456, № 6. P. 1097–1108.
 97. Rorsman P. et al. Activation by adrenaline of a low-conductance G protein-dependent K+ channel in mouse pancreatic B cells // *Nature*. 1991. Vol. 349, № 6304. P. 77–79.
 98. Sieg A. et al. Epinephrine-induced hyperpolarization of islet cells without KATP channels // *Am. J. Physiol. Metab.* 2004. Vol. 286, № 3. P. E463–E471.
 99. Masotti A. et al. Keppen-Lubinsky Syndrome Is Caused by Mutations in the Inwardly Rectifying K+ Channel Encoded by KCNJ6 // *Am. J. Hum. Genet. The American Society of Human Genetics*, 2015. Vol. 96, № 2. P. 295–300.
 100. Basel-Vanagaite L., Shaffer L., Chitayat D. Keppen-Lubinsky syndrome: Expanding the phenotype // *Am. J. Med. Genet. Part A*. 2009. Vol. 149A, № 8. P. 1827–1829.
 101. De Brasi D. et al. New syndrome with generalized lipodystrophy and a distinctive facial appearance: Confirmation of Keppen-Lubinsky syndrome? // *Am. J. Med. Genet.*

- Part A. 2003. Vol. 117A, № 2. P. 194–195.
102. Gorlin, R.J., Cohen, M.M., Hennekam R.C.M. Syndromes of the Head and Neck. 4th ed. New York: Oxford University Press, 2001. 1283 p.
103. Lane P.W. New mutation: weaver, wv // *Mouse News Lett.* 1964.
104. Mulatero P. et al. KCNJ5 Mutations in European Families With Nonglucocorticoid Remediable Familial Hyperaldosteronism // *Hypertension.* 2011. Vol. 59, № 2. P. 235–240.
105. Scholl U.I. et al. Hypertension with or without adrenal hyperplasia due to different inherited mutations in the potassium channel KCNJ5 // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011. Vol. 109, № 7. P. 2533–2538.
106. Choi M. et al. K+ Channel Mutations in Adrenal Aldosterone-Producing Adenomas and Hereditary Hypertension // *Science (80-.).* 2011. Vol. 331, № 6018. P. 768–772.
107. Yang Y. et al. Identification of a Kir3.4 Mutation in Congenital Long QT Syndrome // *Am. J. Hum. Genet.* 2010. Vol. 86, № 6. P. 872–880.
108. Kokunai Y. et al. A Kir3.4 mutation causes Andersen-Tawil syndrome by an inhibitory effect on Kir2.1 // *Neurology.* 2014. Vol. 82, № 12. P. 1058–1064.
109. Ackerman J.P. et al. Abstract 16277: Absence of Putative Long QT Syndrome (LQTS)-Causing Mutations in the KCNJ5-Encoded Kir3.4 Channel Among a Large Cohort of Unrelated Patients With LQT1-12 Genotype Negative/Phenotype Positive LQTS // *Circulation. American Heart Association, 2011.* Vol. 124, № suppl_21. P. A16277–A16277

МИХАИЛ ГУРЬЕВ
КАНАЛЫ И КАНАЛОПАТИИ

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ

ЧАСТЬ 4

Одним из сенсоров внутриклеточного уровня АТФ являются АТФ-чувствительные калиевые каналы. Они закрываются в ответ на повышение внутриклеточной концентрации АТФ, повышая возбудимость мембраны

КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ ВНУТРЕННЕГО ВЫПРЯМЛЕНИЯ ЧАСТЬ 4

Автор: Михаил Гурьев
Редакция: Елена Бреславец, Cornu Ammonis
Оформление: Никита Родионов, Михаил Гурьев
Верстка: Cornu Ammonis

Веб-версия от 31.10.2020

KIR6.X/SURx — АТФ-ЗАВИСИМЫЕ КАЛИЕВЫЕ КАНАЛЫ

Для поддержания гомеостаза необходимы механизмы, отслеживающие энергетический статус клеток. Одним из сенсоров внутриклеточного уровня АТФ (АТФ) являются АТФ-чувствительные калиевые каналы. Они закрываются в ответ на повышение внутриклеточной концентрации АТФ, повышая возбудимость мембраны. Таким образом K_{ATP} -каналы переводят сигнал о содержании энергетических эквивалентов в клетке с химического языка на электрический. Классическим примером модуляции электрической активности клеток K_{ATP} -каналами служит регуляция выделения инсулина бета-клетками островков Лангерганса в ответ на повышение концентрации глюкозы в плазме (ниже этот механизм рассмотрен детально).

K_{ATP} -каналы — это гетерооктамеры из четырех субъединиц Kir6.x и четырех субъединиц SURx. SURx получили название «рецептор сульфонилмочевины» (*sulphonylurea*

receptor), поскольку являются мишенью для противодиабетических препаратов класса производных сульфонилмочевины (ПСМ, таких как толбутамид, глибенкламид) и класса меглитинидов (натеглинид, репаглинид). Субъединицы Kir6.x образуют пору канала, а регуляторные субъединицы SUR располагаются по периферии. Общая структура этого канала приведена на рисунке 22.

В геноме человека есть два гена, кодирующие субъединицы Kir6: *KCNJ8* кодирует Kir6.1, а *KCNJ11* — Kir6.2 (прежнее название BIR — *β -cell inward rectifier* — канал внутреннего выпрямления в β -клетках); и два гена субъединиц SURx: *ABCC8* (SUR1) и *ABCC9* (SUR2). SURx относятся к семейству транспортеров АТФ-связывающей кассеты (*ATP-binding cassette transporter*); 17 пересекающих мембрану альфа-спиралей в их структуре организованы в три трансмембранных домена TMD0, TMD1 и TMD2.

SUR2 встречается в двух основных сплайс-вариантах SUR2A и SUR2B, которые различаются 42 С-концевыми остатками. Это небольшое отличие в структуре лежит в основе различий в функции и фармакологическом профиле Kir6.2/SUR2x каналов в различных тканях. Так, SUR2A экспрессируется в желудочках сердца, скелетных мышцах, яичниках, а также в нейронах головного мозга, языке и островках Лангерганса. SUR2B присутствует во многих тканях, например, в гладких мышцах и эндотелии сосудов, сократительной и проводящей системе сердца, эпителии легких, волосных фолликулах, проксимальных канальцах почек, почечном эпителии, микроглии, астроцитах и в нейронах зубчатой извилины.

Регуляция K_{ATP} -каналов нуклеотидами и PIP_2

K_{ATP} -каналы — сенсоры энергетического статуса клетки: они инактивируются в присутствии АТФ и активируются MgАДФ, причем сайты связывания АТФ и MgАДФ находятся на разных субъединицах (см. рис. 22).

Внутриклеточный АТФ блокирует K_{ATP} -каналы, связываясь с порообразующими субъединицами Kir6.x. Если удалить последние 26 аминокислот в Kir6.2, сигнал его локализации в ЭПР, можно получить независимые от SURx гомомерные каналы, которые блокируются АТФ (хотя их чувствительность к АТФ отличается) [2]. Существуют данные о том, что связывание АТФ дестабилизирует взаимодействие с PIP_2 (про роль PIP_2 в регуляции каналов Kir см. Часть 1) и таким образом стимулирует закрытие канала [3, 4].

За активацию K_{ATP} -каналов MgАДФ отвечают регуляторные субъединицы SURx. Между TMD1 и 2, а также на С-конце этих белков расположены нуклеотид-связывающие домены, которые содержат мотивы Walker A и B (назва-

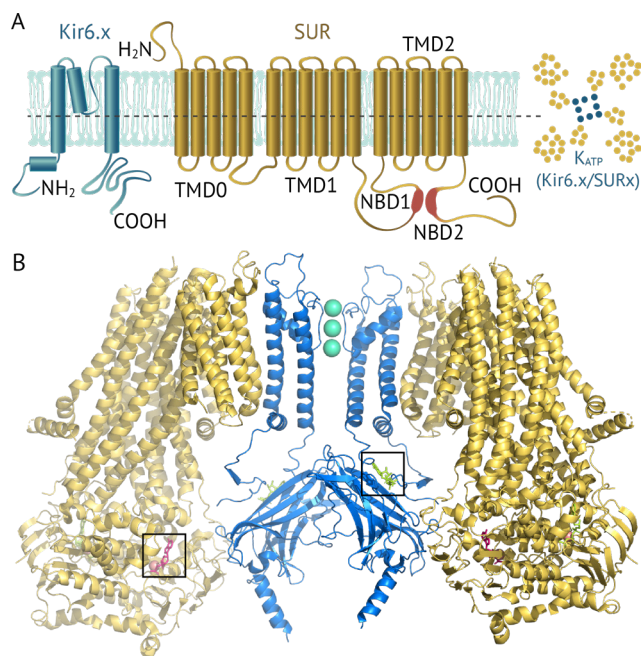


Рисунок 22 | Архитектура K_{ATP} -канала

А. Субъединицы Kir6.x состоят из двух пересекающих мембрану альфа-спиралей, которые образуют пору канала. Субъединицы SURx насчитывают семнадцать трансмембранных альфа-спиралей, объединяемых в три трансмембранных домена (TMD0-2). SURx располагаются на периферии канала и выполняют регуляторную функцию. Между TMD1 и TMD2 и на цитозольном COOH-конце расположены нуклеотидсвязывающие домены NBD1 и NBD2.

В. Структура двух пар SUR1-Kir6.2. SUR1 показаны желтым цветом, Kir6.2 — синим. В селективном фильтре канала расположены три иона K^+ , малиновым цветом показаны MgADP, салатovým — связанный с Kir6.2 АТФ [1].

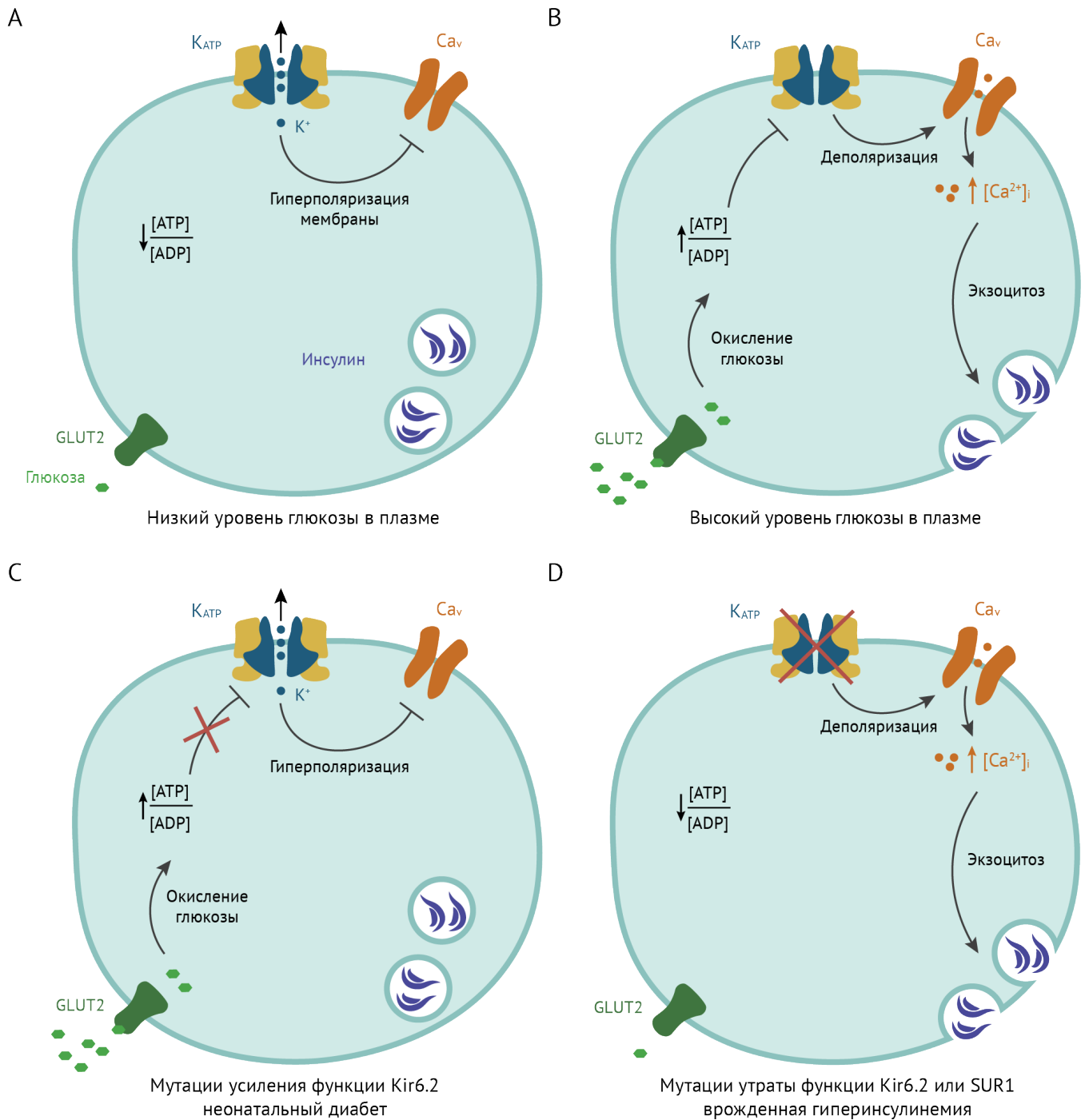


Рисунок 23 | K_{ATP} -каналы в клетках поджелудочной железы [9, с изменениями].

ны так в честь открывшего их британского химика Джона Эрнеста Уокера). Мутации остатков лизина K719, K1384 (в SUR1) в мотивах Walker A и аспартата D854 в Walker B нарушают активацию K_{ATP} -каналов MgАДФ [5]. В этих же участках SURx связываются и лекарственные средства-активаторы калиевых каналов.

Активность K_{ATP} -каналов зависит от уровня PIP_2 , и эта связь может играть роль *in vivo* в сигналинге рецепторов, сопряженных с Gαq-белками: связывание лиганда с GPCR — рецепторами, сопряженными с G-белками (например, α1-адренорецептором, M₁-холинорецепторами или рецепторами к эндотелину и ангиотензину II) ведет к активации PLC, которая расщепляет PIP_2 [6].

Физиологическая роль K_{ATP} -каналов

Контроль уровня глюкозы с помощью K_{ATP} -каналов в β-клетках поджелудочной железы и в вентромедиальном гипоталамусе

В β-клетках K_{ATP} -каналы представлены гетеромерами Kir6.2/SUR1 [7]. При поступлении сахаров с пищей глюкоза из крови проникает в β-клетки поджелудочной железы через инсулиннезависимый транспортер GLUT2, где в результате ее катаболизма повышается соотношение $[ATP]/[ADP]$. АТФ связывается с K_{ATP} -каналами, в результате чего калиевый ток через них уменьшается, а мембрана деполяризуется. Когда деполяризация достигает порогового значения для потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа

(около -50 мВ), они открываются, Ca^{2+} поступает в клетку и запускает экзоцитоз везикул с инсулином [8].

Исследования на трансгенных мышах, нокаутных по Kir6.2 или экспрессирующих доминантно-негативный вариант Kir6.2, свидетельствуют о роли K_{ATP} -каналов в дифференцировке клеток островков Лангерганса, в поддержании мембранного потенциала β -клеток и секреции инсулина в ответ на стимуляцию глюкозой. Новорожденные нокаутные мыши отличаются повышенным уровнем инсулина и гипогликемией, изолированные островки Лангерганса этих мышей не способны выделять инсулин в ответ на поступление глюкозы. В молодом возрасте концентрация глюкозы в крови у таких мышей нормальна и толерантность к глюкозе нарушена слабо. При внутрибрюшинном введении глюкозы или после приема пищи у нокаутных мышей наблюдается выделение небольшого количества инсулина, что, возможно, стимулируется инкретинами — глюкагоноподобным пептидом (GLP1) и гастроингибиторным пептидом (GIP), или другими механизмами. Однако с возрастом, если трансгенные мыши набирали вес, у них нарушалась толерантность к глюкозе и развивалась гипергликемия, чего не наблюдалось ни у нокаутных мышей с нормальной массой тела, ни у мышей дикого типа с ожирением [10]. Из исследований на мышах, нокаутных по Kir6.2, а также по рецепторам к GLP1 или GIP была предложена модель развития сахарного диабета II типа с первичным генетическим дефектом секреции инсулина, к которому затем подключается приобретенная инсулинорезистентность [10].

Секреция инсулина β -клетками зависит также от плотности K_{ATP} -каналов на мембране. При голодании плотность K_{ATP} -каналов на плазмалемме увеличивается через АМФК-зависимый сигнальный путь. Эта киназа активируется повышением соотношения [АМФ]/[АТФ] и стимулирует окисление жирных кислот в печени и скелетных мышцах и захват глюкозы миоцитами и тормозит синтез липидов и холестерина. Гормон жировой ткани лептин, помимо центральных эффектов на гипоталамус (снижает аппетит, действуя на латеральный гипоталамус, и стимулирует чувство насыщения, действуя на медиальный гипоталамус), стимулирует перемещение K_{ATP} -каналов на поверхность β -клеток, в этом сигнальном каскаде участвуют АМФК, PKA и СаМКК β [11, 12].

В вентромедиальном ядре гипоталамуса (VMH) находятся нейроны, чувствительные к уровню глюкозы в мозге (так называемый центр насыщения). Как и β -клетки, нейроны VMH экспрессируют Kir6.2/SUR1 K_{ATP} -каналы, которые регулируют возбудимость этих нейронов в зависимости от метаболического статуса. В ответ на нейрогликопению эти нейроны через симпатическое звено автономной нервной системы запускают выделение глюкагона α -клетками поджелудочной железы. У мышей, нокаутных по Kir6.2 (*Kcnj11*^{-/-}), секреция глюкагона в ответ на понижение концентрации глюкозы не нарушена, что было показано в экспериментах на изолированных островках Лангерганса, однако нейроны VMH не изменяют частоту генерации потенциалов действия в ответ на стимуляцию глюкозой [13].

Уровень глюкозы плазмы крови может регулироваться через активацию или торможение глюконеогенеза в печени, и в этом также участвуют K_{ATP} -каналы в гипоталамусе. Так, активация этих каналов (а также активация инсулинового рецептора) в нейронах аркуатного ядра ведет к ингибированию глюконеогенеза в печени и снижению концен-

трации глюкозы в плазме. Под действием инсулина активируется сигнальный каскад PI3K/Akt, который и открывает K_{ATP} -каналы, что ведет к гиперполяризации мембраны нейронов аркуатного ядра (схема). K_{ATP} -каналы есть как на проопиомеланокортиновых нейронах, так и на нейронах, экспрессирующих агути-родственный пептид [14], которые посылают проекции к ядрам блуждающего нерва в стволе мозга. У мышей, нокаутных по SUR1, стимуляция нейронов аркуатного ядра инсулином не приводила к подавлению глюконеогенеза, как и у мышей дикого типа с перерезанной печеночной ветвью блуждающего нерва [15]. Кажется удивительным, что K_{ATP} -каналы, стимулом к открытию которых обычно является недостаток энергии, в нейронах аркуатного ядра опосредуют влияние инсулина, связанное с подавлением высвобождения глюкозы, однако этот механизм был показан как на грызунах, так и на людях [16, 17]. Схожие K_{ATP} -зависимые эффекты наблюдались в ответ на ингибирование окисления жирных кислот, что свидетельствует о роли аркуатного ядра гипоталамуса в интеграции сигналов о метаболическом статусе [18, 19]. Этот механизм влияет не только на метаболизм гепатоцитов, но и на пищевое поведение. Нокаут гена PIP₃ 3-фосфатазы *Pten* в проопиомеланокортиновых нейронах аркуатного ядра вызывал стабильную активацию K_{ATP} -каналов в этих нейронах, и нокаутные мыши страдали от гиперфагии и ожирения [20]. Подробнее про центральную регуляцию потребления пищи можно прочитать [здесь](#).

K_{ATP} -каналы в сердце

K_{ATP} -каналы присутствуют в клетках миокарда желудочков, предсердий и в проводящей системе сердца. В миокарде желудочков K_{ATP} -каналы состоят из Kir6.2/SUR2A субъединиц [21, 22]¹. Эти каналы имеют проводимость около 80 пСм [23, 24], блокируются глибенкламидом и открываются под действием активаторов калиевых каналов пинацидила и кромакалина, но практически нечувствительны к диазоксиду в отсутствие MgADФ [25].

K_{ATP} -каналы предсердий несколько отличаются от желудочковых. Как и в желудочках, Kir6.2 является основной Kir6 субъединицей в предсердии; в кардиомиоцитах нокаут по *Kcnj11* K_{ATP} -ток отсутствует [26]. Однако, в отличие от желудочков, SUR представлен изоформой SUR1: у мышей, нокаутных по SUR1, ток через K_{ATP} -каналы отсутствует в кардиомиоцитах предсердий, но нормален в кардиомиоцитах желудочков [27]. Однако ключевая роль SUR1 в формировании K_{ATP} -каналов в предсердиях может быть характерна для грызунов, но не для человека, поскольку различия чувствительности к диазоксиду в атриальных и вентрикулярных кардиомиоцитах выражено слабо [28].

K_{ATP} -каналы в кардиомиоцитах в покое закрыты; они открываются в условиях гипоксии и ишемии, когда соотношение [АТФ]/[АДФ] падает, и сокращают длительность потенциала действия и эффективного рефрактерного периода [29]. Кроме того, K_{ATP} -каналы предсердий могут активироваться в гипотонической среде [30] или при растяжении мембраны [31]. Эта активация калиевого тока может сдерживать выделение предсердного натрийуретического пептида (ANP) в ответ на механическое растяжение: у мы-

¹ Есть данные об экспрессии Kir6.1 и SUR1 в кардиомиоцитах желудочков, которые могут участвовать в формировании атипичного K_{ATP} -канала с проводимостью 21 пСм, чувствительного к активации диазоксидом [118].

шей, нокаутных по Kir6.2, увеличение объема циркулирующей крови вызывает более интенсивное выделение ANP предсердиями, чем у мышей дикого типа [26]. Таким образом, K_{ATP} -каналы в предсердиях могут служить механизмом отрицательной обратной связи, ограничивая ответ на гипертонию.

В проводящей системе сердца K_{ATP} -каналы могут иметь иной субъединичный состав, чем в желудочках и предсердиях: у мышей в клетках проводящей системы обнаружена экспрессия Kir6.1 помимо Kir6.2 [24], и варианты гена *KCNJ8*, ассоциированные с риском различных нарушений сердечного ритма [32–37]. В работе Вао и соавт. [24] также была обнаружена экспрессия изоформы SUR2B и отсутствие SUR1 в клетках проводящей системы. K_{ATP} -каналы участвуют в замедлении сердечного ритма в условиях гипоксии и могут запускать нарушения проведения возбуждения при ишемии [29].

КАТР-каналы в кровеносных сосудах

K_{ATP} -каналы экспрессируются как в гладкомышечных клетках сосудов, так и в эндотелии.

В гладких мышцах сосудов K_{ATP} -каналы состоят преимущественно из Kir6.1/SUR2B [22, 38, 39] и также называются K_{NDP} -каналами, т. к. для их активности необходимы нуклеозиддифосфаты в цитозоле. Эти каналы опосредуют вазодилатацию в ответ на аденозин [39], гипоксию [40] и физическую активность [41, 42], а также тормозят секрецию эндотелина [43].

У мышей, нокаутных по SUR2 [44] или Kir6.1 [38], повышено артериальное давление в покое и они спонтанно погибают от вазоспазма коронарных артерий, который сопровождается подъемом ST-сегмента. Это состояние может быть купировано антагонистом кальциевых каналов L-типа нифедипином. Симптомы у этих мышей очень сходны со стенокардией Принцметала (вариантной стенокардией) человека, однако мутации генов субъединиц K_{ATP} -каналов у пациентов с этим заболеванием до настоящего времени не найдены.

В общем, роль K_{ATP} -каналов в сердечно-сосудистой системе можно описать как кардиопротекторную и вазодилатирующую. Открытие K_{ATP} -каналов при ишемии приводит к укорочению ПД, уменьшению поступления кальция в цитозоль и отрицательному инотропному эффекту. Таким образом потребление АТФ снижается и сохраняются внутриклеточные запасы энергии, что противодействует ишемическому повреждению. Эта гипотеза экономии АТФ была высказана в самой первой публикации про сердечные K_{ATP} -каналы [45], и к настоящему времени каждый этап этого пути нашел экспериментальные подтверждения. Кардиопротекторная роль K_{ATP} -каналов связана с явлением преколондиционирования — повышенной устойчивости подвергнувшегося кратковременной ишемии сердца к последующим ишемическим атакам. Кроме того, преколондиционирование может быть вызвано адреналином, физической активностью и газообразными анестетиками. Антагонисты K_{ATP} -каналов блокируют кардиопротекторные эффекты преколондиционирования, а активаторы K_{ATP} -каналов имитируют преколондиционирование без гипоксии [29]. K_{ATP} -каналы

могут способствовать сохранению функций митохондрий при ишемии: либо напрямую через митохондриальные K_{ATP} -каналы² (O'Rourke, 2000), либо опосредованно, через снижение поступления Ca^{2+} в цитозоль (Storey, 2013). Предполагается, что поступление K^+ в митохондрии при ишемии и работа K^+/H^+ -антипортера позволяет увеличить объем матрикса митохондрий и стимулирует синтез АТФ [46]. Митохондрии, изолированные из подвергнувшегося ишемии сердца, синтезируют АТФ более интенсивно [47]. В защите миокарда от ишемии участвуют не только K_{ATP} -каналы сердца, но и каналы других локализаций: каналы гладких мышц и эндотелия сосудов вызывают вазодилатацию, K_{ATP} -каналы нервных окончаний симпатической нервной системы тормозят выброс норадреналина, что удлиняет диастолу и снижает потребность сердца в кислороде [48].

Мутации и полиморфизмы в КАТР-каналах человека

Мутации и полиморфизмы в генах порообразующих (*KCNJ8*, 11) и регуляторных (*ABCC8*, 9) субъединиц K_{ATP} -каналов вызывают различные метаболические нарушения, сердечно-сосудистые заболевания и аномалии развития.

Семейная гиперинсулинемическая гипогликемия

Мутации, нарушающие работу Kir6.2/SUR1, вызывают семейную гиперинсулинемическую гипогликемию (OMIM: 601820 и 256450). Дефектные K_{ATP} -каналы способствуют постоянной деполяризации мембраны β -клеток и секреции инсулина даже при низком уровне глюкозы в плазме (см. рис. 23). Симптомы проявляются у новорожденных и включают в себя высокую массу при рождении для данного срока, судороги и кому [49]. Иногда гиперинсулинемию удается скорректировать диазоксидом или соматостатином, однако во многих случаях приходится прибегать к удалению части поджелудочной железы. В различных популяциях генетические основы этого состояния различаются. Так, в Саудовской Аравии значительная доля случаев вызвана одной из двух мутаций в SUR1 [50], среди евреев ашкенази 88 % случаев объясняется присутствием одного из двух мутантных аллелей *ABCC8* [51], в Финляндии большая часть случаев этого заболевания кластеризуются в одном регионе и объясняются одной мутацией SUR1^{V147D} [52], однако в целом разнообразие мутаций велико [53–55]. Характер наследования обычно аутосомно-рецессивный, но бывают и доминантные мутации. Мутации, которые связаны с аутосомно-доминантным наследованием, обычно вызывают более легкую форму заболевания и проявляются позже, а часть носителей асимптоматичны [56].

Неонатальный сахарный диабет и предрасположенность к диабету II типа

Мутации приобретения функции в генах субъединиц Kir6.2 и SUR1 могут приводить к неонатальному сахарному диабету. Диабет новорожденных подразделяется на перманентный (OMIM: 606176) и транзиторный (OMIM: 610582 и 610374). В первом случае гипергликемия наблюдается с первых месяцев жизни и требует непрерывной терапии, а во втором уровень глюкозы в плазме приходит в норму с возможным возобновлением симптомов в более взрослом возрасте. Перманентный неонатальный сахарный диабет может проявляться или только в форме метаболического нарушения, или дополнительно включать в себя задержку развития и эпилепсию, тогда говорят о DEND-синдроме

² В 2019 году группа ученых под руководством Диего Де Стефани обнаружила собственно митохондриальные K_{ATP} -каналы — $mitoK_{ATP}$, которые образованы субъединицами CCDC51 — MITOK и ABCB8 — MITOSUR [119].

(developmental delay, epilepsy, and neonatal diabetes). В общем случае диабет новорожденных вызывают мутации в *KCNJ11* и *ABCC8*, снижающие чувствительность K_{ATP} -каналов к ингибированию АТФ и повышающие вероятность открытия канала (P_o). Такие каналы не закрываются в ответ на повышение [АТФ] и постоянно гиперполяризуют мембрану клетки. Интересно, что каналы с подобными мутациями как в *KCNJ11*, так и в *ABCC8* сохраняют чувствительность к производным сульфонилмочевины, что позволяет использовать эти препараты вместо инсулина [57, 58, 67, 59–66].

Полиморфизм в гене *KCNJ11*, ведущий к аминокислотной замене Glu23Lys, часто присущ пациентам с диабетом II типа (OMIM: 125853) [68], и эти результаты были подтверждены на различных популяциях [69–71]. При замене глутамата на положительно заряженный лизин увеличивается вероятность открытия канала и уменьшается его чувствительность к АТФ [72], в результате чего снижается толерантность к глюкозе [73]. Этот вариант зачастую встречается вместе с полиморфизмом в кодоне 1369 гена *ABCC8*, заменой Ser1369Ala, поскольку гены *KCNJ11* и *ABCC8* расположены близко друг к другу [74]. В работе [75] авторы вызывали экспрессию редко встречающейся комбинации Lys23/Ser1369 и Glu23/Ala1369 и выяснили, что уменьшение чувствительности к АТФ происходит вследствие полиморфизма S1369A.

Синдромы с J-волной

Мутации усиления функции в *KCNJ8* могут быть фактором развития синдромов с J-волной, к которым относятся синдром Бругада и синдром ранней реполяризации желудочков. В настоящее время описан один вариант Kir6.1^{Ser422Leu}, связанный с синдромами с J-волной [32, 35, 36] и с повышенным риском развития фибрилляции предсердий [32, 34], однако причинно-следственная связь между этой мутацией и развитием синдромов с J-волной не ясна [78, 79]. Этот вариант чаще встречается в популяции ашкенази, среди них даже был описан гомозиготный по этому варианту индивид [37]. Из этого исследования может следовать, что вариант Kir6.1^{Ser422Leu} — это безопасный полиморфизм, или что риск синдромов с J-волной повышен в популяции ашкенази, или что патогенетичность этого варианта зависит от генетического бэкграунда, который различается в разных европейских популяциях.

Синдром Бругада

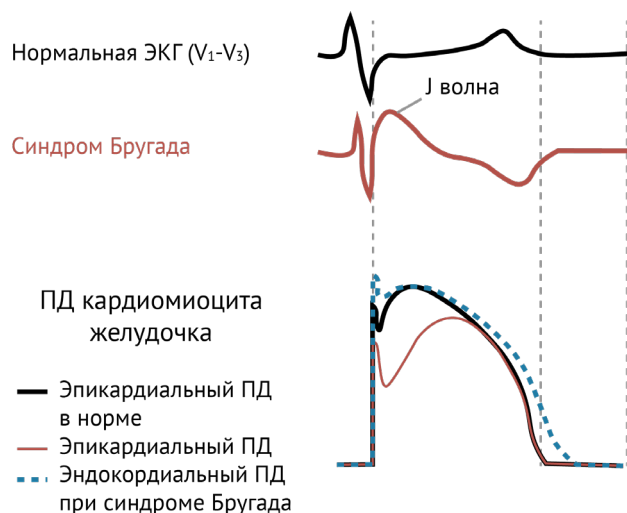


Рисунок 24 | Синдромы с J-волной на ЭКГ (отведения V1–V3) и особенности потенциала действия при синдроме Бругада [80].

Синдром Канту

Синдром Канту (OMIM: 239850) — это редкое генетическое нарушение, среди симптомов которого — врожденный гипертрихоз, макросомия при рождении, остеохондроплазия, кардиомегалия, открытый артериальный проток, расширенные и извилистые сосуды, специфические черты лица и др. (см. рис. 25) [81]. Этот синдром вызывают мутации в гене *ABCC9*, наследуемые по аутосомно-доминантному типу [82, 83], и у двоих пациентов без мутаций в *ABCC9* были обнаружены мутации усиления функции в *KCNJ8* (присутствуют в основном в гладких мышцах сосудов, но не в сердце), снижающие чувствительность канала к АТФ [79, 84]. Интересно, что сердечно-сосудистые проявления синдрома Канту возникают вследствие компенсаторных механизмов, и длительное применение глибенкламида подавляло гипертрофию сердца в модели синдрома Канту на мышах с мутацией SUR2^{Ala478Val} и частично подавляло ее в модели с мутацией Kir6.1^{Val65Met} с пониженной чувствительностью к глибенкламиду. Уровень глюкозы в плазме крови временно упал в начале применения глибенкламида, но вскоре вернулся в норму [85].

Интересно, что часть симптомов синдрома Канту может возникать при использовании активатора K_{ATP} -каналов миноксидила: так, миноксидил стимулирует рост волос и топически применяется для контроля андрогенной алопеции [86]; описан случай гипертрихоза и аномалий развития у новорожденного после приема миноксидила при беременности [87], а в высоких дозировках миноксидил может вызывать псевдоакромегалию [88]. Предполагалось, что миноксидил улучшает кровообращение волосяных фолликулов, однако точный механизм влияния миноксидила на рост волос и мягких тканей неизвестен.

Дилатационная кардиомиопатия

У двух пациентов с дилатационной кардиомиопатией были обнаружены гетерозиготные варианты в экзоне 38 гена *ABCC9*, который кодирует C-конец изоформы SUR2A (OMIM: 608569) [89]. Миссенс-мутация A1513T и мутация сдвига рамки считывания Fs1524 снижают каталитическую активность второго нуклеотид-связывающего домена и нарушают регуляцию воротного механизма канала нуклеотидами.

Синдром AIMS

В 2019 году была обнаружена мутация сплайс-сайта в гене *ABCC9* (с.1320 +1G> A), которая в гомозиготном состоянии вызывала нарушение интеллектуального развития и миопатию. Этот синдром получил аббревиатуру AIMS (*ABCC9-related Intellectual disability Myopathy Syndrome*).



Рисунок 25 | Типичная внешность пациента с синдромом Канту при рождении и в возрасте 10 лет. На верхней левой панели — вместе со здоровой сестрой-близнецом [81]

Синдром был описан на основании шести пациентов из двух семей в Северной Норвегии. В гетерозиготном состоянии этот генетический вариант не был найден в Азии и в Африке, но встречается в европейских популяциях, и его частота достигает 0,07 % среди финнов. На молекулярном уровне этот вариант ведет к делеции экзона 8 в SUR2 и к полному отсутствию функциональных SUR2-содержащих $K_{\text{АТР}}$ -каналов. Среди симптомов AIMS отмечается повышенная утомляемость, гиперинтенсивность белого вещества на МРТ, тревожность и систолическая дисфункция у двух старших пациентов. Мыши, нокаутные по гену *Abcc9*, также страдали от утомляемости и увеличения левого желудочка. У трех из шести пациентов был гипотелоризм, что согласуется с уменьшенным расстоянием между глазами у нокаутных *Danio rerio*, однако для оценки влияния экспрессии SUR2 на морфогенез черт лица необходимо обследовать больше пациентов [90].

ФАРМАКОЛОГИЯ

Классические блокаторы потенциал-зависимых калиевых каналов — производные тетраэтиламмония (TEA) и 4-аминопиридина (4-AP) — слабо влияют на каналы Kir [91, 92]. Ионы Cs^+ и Ba^{2+} в микромолярных концентрациях блокируют каналы Kir, причем при аппликации с внешней стороны мембраны их действие сильнее, если мембрана гиперполяризована, и тем слабее, чем выше внеклеточная концентрация K^+ [91, 93]. Хотя природных селективных высокоаффинных блокаторов Kir-каналов не найдено, некоторые вещества могут блокировать ток через Kir-каналы.

Тертиапин — токсин, изолированный из пчелиного яда, — блокирует K_{G} и Kir1.1. [94], а его мутантная форма с двумя заменами His12Leu, Met13Gln является сравнительно специфичным блокатором Kir1.1 [95].

До недавнего времени селективных блокаторов каналов семейства Kir, действующих на порообразующие субъединицы, не существовало, однако в последние годы были найдены блокаторы с субмикромолярной концентрацией полумаксимального ингибирования (IC_{50}) (таблица 2). Противопаразитарный препарат пентамидин блокирует различные калиевые каналы, в том числе Kir2.x, что, вероятно, может объяснять удлинение интервала QT и другие аритмии при применении этого препарата. На его основе был

получен его аналог PA-6, обладающий большей аффинностью к Kir2.x [96, 97]. Для некоторых ингибиторов известны сайты связывания с каналами Kir, например, VU591 блокирует пору Kir1.1 в области Val168 и Asn171 [98]. Для блокирующего действия пентамидаина нужны остатки Thr127, Thr128 и Glu158 в Kir4.1 [99] и Glu224, Asp259 и Glu299 в Kir2.1 [100].

Таблица 2 | Блокаторы калиевых каналов.

Блокатор	Изоформа Kir	IC_{50}	Ссылки
Тертиапин	Kir1.1	1 нМ	[94]
	Kir3.1/3.4	8-10 нМ	
Тертиапин H12L, M13Q	Kir1.1	1 нМ	[95]
	Kir3.1/3.4	361 нМ	
	Kir3.1/3.2	247 нМ	
δ -дендротоксин	Kir1.1	150 нМ	[101]
Пентамидин	Kir2.1	170 нМ	[100]
	Kir4.1	97 нМ	[99]
PA-6	Kir2.1	12.2 нМ	[96, 97]
	Kir2.2	13 нМ	[99]
	Kir4.1	132 нМ	
ML133	Kir2.1	290 нМ (pH 8.5)	[102]
		1.8 мкМ (pH 7.4)	
VU590	Kir 1.1	220-290 нМ	[103, 104]
		800 нМ	
VU591	Kir 1.1	300 нМ	[98, 105]
VU0134992	Kir 4.1	970 нМ	[106]
		конкатамеры Kir4.1/5.1	
ML418	Kir7.1	310 нМ	[107]
GA (gambogic acid — гамбогиновая кислота)	Kir2.1	4.8 мкМ	[108]
		0.63 мкМ	
		1.74 мкМ	
		0.14 мкМ	
		17.2 мкМ	
Kir2.2/2.3	0.85 мкМ		

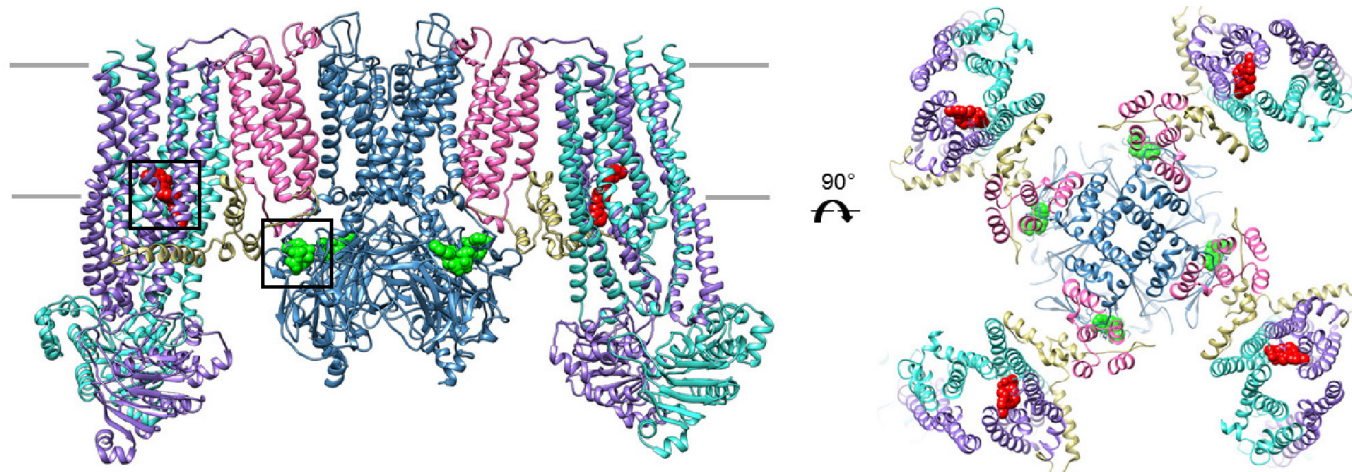


Рисунок 26 | Модель структуры Kir6.2/SUR1.

Красным показан глибенкламид, зеленым — АТФ. Слева — вид в плоскости мембраны, справа — вид с внеклеточной стороны [112].

Таблица 3 | Действие активаторов калиевых каналов на K_{АТФ}-каналы в различных типах клеток [114].

Тип клеток	Изоформа SUR	Пинацидил	Кромкалим	Диазоксид	Никорандил
β-клетки	SUR1	(+)		+	
Кардиомиоциты	SUR2A	+	+		+
Гладкие мышцы	SUR2B	+	+	+	+

Фармакологические агенты, влияющие на K_{АТФ}-каналы, действуют через их бета-субъединицы SURx. Производные сульфонилмочевины (PCM) и меглитиниды блокируют K_{АТФ}-каналы в разных сайтах связывания (подробнее про препараты можно почитать тут). Эффект PCM на K_{АТФ}-каналы зависит от внутриклеточной концентрации MgАДФ, а также от изоформы SURx: толбутамид блокирует SUR1-содержащие каналы β-клеток в 10 раз сильнее в присутствии MgАДФ [5, 109], а SUR2-содержащие каналы не отвечают на 300 мкМ глибенкламида при внутриклеточной концентрации MgАДФ 100 мкМ [110]. Новые исследования структуры K_{АТФ}-каналов могут объяснить механизм блокировки канала и зависимость ее эффективности от концентрации внутриклеточного MgАДФ. В 2017 году методом криоэлектронной микроскопии были изучены несколько структур канала Kir6.2/SUR1 в присутствии глибенкламида [111–113]. В этих структурах два гомологичных нуклеотид-связывающих домена SUR1 повернуты приблизительно на 15° относительно оси симметрии и не могут димеризоваться. Авторы этих работ предполагают, что либо глибенкламид стабилизирует эту «повернутую» конформацию и препятствует димеризации NBD-доменов, либо такая конформация присуща SUR1 в норме, а глибенкламид не дает конформационным изменениям при гидролизе передаться на поровый домен Kir6.2.

K_{АТФ}-каналы также служат мишенью для активаторов калиевых каналов (*K-channel openers*), таких как миноксидил, кромакалим, диазоксид, никорандил и пинацидил [114]. Эти вещества также действуют на SURx-субъединицы и их эффекты зависят от изоформы SUR. Активаторы калиевых каналов различаются механизмами действия. Некоторые из них, такие как пинацидил, кромакалим и их производные,

уменьшают чувствительность K_{АТФ}-каналов к АТФ и стимулируют открытие каналов при фиксированной концентрации АТФ в цитозоле [29]. Пинацидил действует на SUR2 и не влияет на SUR1-содержащие K_{АТФ}-каналы. Для действия активаторов калиевых каналов другой группы, диазоксида и никорандила, необходим внутриклеточный АДФ. Зависимость чувствительности K_{АТФ}-каналов к активаторам и блокаторам от содержания внутриклеточных нуклеотидов необходимо учитывать в анализе функции K_{АТФ}-каналов при различных метаболических состояниях.

Поскольку экспрессия различных вариантов SUR тканеспецифична, эффекты активаторов калиевых каналов несколько различаются. Так, все активаторы калиевых каналов вызывают вазодилатацию, действуя на гладкие мышцы сосудов, и поэтому используются в терапии артериальной гипертензии. Благодаря действию на SUR1 диазоксид может тормозить секрецию инсулина и используется при врожденном гиперинсулинизме или инсулиноме и противопоказан при сахарном диабете II типа. Миноксидил в настоящее время не используют как антигипертензивный препарат, но применяют местно для коррекции андрогенной алопеции (см. раздел синдром Канту).

Кальциевый сенсibilизатор левосимендан, используемый в терапии сердечной недостаточности, помимо тропонина С действует и на K_{АТФ}-каналы. Левосимендан открывает K_{АТФ}-каналы в присутствии АТФ с EC₅₀ ~4 мкМ. Он действует на каналы в кардиомиоцитах предсердий [115] и желудочков, что ведет к укорочению ПД [116], а также в гладких мышцах сосудов [117], вызывая вазодилатацию.

Источники:

1. Lee K.P.K., Chen J., MacKinnon R. Molecular structure of human KATP in complex with ATP and ADP // *Elife*. 2017. Vol. 6. P. 1–23.
2. Tucker S.J. et al. Truncation of Kir6.2 produces ATP-sensitive K⁺ channels in the absence of the sulphonylurea receptor // *Nature*. 2003. Vol. 387, № 6629. P. 179–183.
3. John S.A., Weiss J.N., Ribalet B. ATP sensitivity of ATP-sensitive K⁺ channels: Role of the γ phosphate group of ATP and the R50 residue of mouse Kir6.2 // *J. Physiol*. 2005. Vol. 568, № 3. P. 931–940.
4. Shyng S.L., Nichols C.G. Membrane phospholipid control of nucleotide sensitivity of KATP channels // *Science* (80-). 1998. Vol. 282, № 5391. P. 1138–1141.
5. Gribble F.M., Tucker S.J., Ashcroft F.M. The essential role of the Walker A motifs of SUR1 in K-ATP channel activation by Mg-ADP and diazoxide // *EMBO J*. 1997. Vol. 16, № 6. P. 1145–1152.
6. Haruna T. et al. α 1-Adrenoceptor-Mediated Breakdown of Phosphatidylinositol 4,5-Bisphosphate Inhibits Pinacidil-Activated ATP-Sensitive K⁺ Currents in Rat Ventricular Myocytes // *Circ. Res*. 2002. Vol. 91, № 3. P. 232–239.
7. Aguilar-Bryan L. et al. Toward Understanding the Assembly and Structure of KATP Channels // *Physiol. Rev*. 1998. Vol. 78, № 1. P. 227–245.
8. Rorsman P., Ashcroft F.M. Pancreatic β -Cell Electrical Activity and Insulin Secretion: Of Mice and Men // *Physiol. Rev*. 2018. Vol. 98, № 1. P. 117–214.
9. Ashcroft F.M. ATP-sensitive potassium channelopathies: Focus on insulin secretion // *J. Clin. Invest*. 2005. Vol. 115, № 8. P. 2047–2058.
10. Seino S. et al. Diverse roles of K(ATP) channels learned from Kir6.2 genetically engineered mice // *Diabetes*. 2000. Vol. 49, № 3. P. 311–318.
11. Chen P.-C., Kryukova Y.N., Shyng S.-L. Leptin Regulates KATP Channel Trafficking in Pancreatic β -Cells by a Signaling Mechanism Involving AMP-activated Protein Kinase (AMPK) and cAMP-dependent Protein Kinase (PKA) // *J. Biol. Chem*. 2013. Vol. 288, № 47. P. 34098–34109.
12. Park S.-H. et al. Leptin promotes KATP channel trafficking by AMPK signaling in pancreatic β -cells // *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2013. Vol. 110, № 31. P. 12673–12678.
13. Miki T. et al. ATP-sensitive K⁺ channels in the hypothalamus are essential for the maintenance of glucose homeostasis // *Nat. Neurosci*. 2001. Vol. 4, № 5. P. 507–512.
14. Könnner A.C. et al. Insulin Action in AgRP-Expressing Neurons Is Required for Suppression of Hepatic Glucose Production // *Cell Metab*. 2007. Vol. 5, № 6. P. 438–449.
15. Pocai A. et al. Hypothalamic KATP channels control hepatic glucose production // *Nature*. 2005. Vol. 434, № 7036. P. 1026–1031.
16. Carey M. et al. Central KATP channels modulate glucose effectiveness in humans and rodents // *Diabetes*. 2020. Vol. 69, № 6. P. 1140–1148.
17. Kishore P. et al. Activation of KATP channels suppresses glucose production in humans // *J. Clin. Invest*. 2012. Vol. 121, № 12. P. 4916–4920.
18. Pocai A. et al. A brain-liver circuit regulates glucose homeostasis // *Cell Metab*. 2005. Vol. 1, № 1. P. 53–61.
19. Ruud J., Steculorum S.M., Bruning J.C. Neuronal control of peripheral insulin sensitivity and glucose metabolism // *Nat. Commun*. 2017. Vol. 8, № May. P. 1–12.
20. Plum L. et al. Enhanced PIP3 signaling in POMC neurons causes KATP channel activation and leads to diet-sensitive obesity // *J. Clin. Invest*. 2006. Vol. 116, № 7. P. 1886–1901.
21. Stoller D.A. et al. Cardiomyocyte sulphonylurea receptor 2-KATP channel mediates cardioprotection and ST segment elevation // *Am. J. Physiol. Circ. Physiol*. 2018. Vol. 1, № 34. P. 1100–1108.
22. Suzuki M. et al. Functional Roles of Cardiac and Vascular ATP-Sensitive Potassium Channels Clarified by Kir6.2-Knockout Mice // *Circ. Res*. 2001. Vol. 88. P. 570–577.
23. Babenko A.P. et al. Reconstituted Human Cardiac KATP Channels // *Circ. Res*. 2012. Vol. 83, № 11. P. 1132–1143.
24. Bao L. et al. Unique properties of the ATP-sensitive K⁺ channel in the mouse ventricular cardiac conduction system // *Circ. Arrhythmia Electrophysiol*. 2011. Vol. 4, № 6. P. 926–935.
25. D'hahan N. et al. Pharmacological plasticity of cardiac ATP-sensitive potassium channels toward diazoxide revealed by ADP // *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1999. Vol. 96, № 21. P. 12162–12167.
26. Saegusa N. et al. Kir6.2-deficient mice are susceptible to stimulated ANP secretion: KATP channel acts as a negative feedback mechanism? // *Cardiovasc. Res*. 2005. Vol. 67, № 1. P. 60–68.
27. Flagg T.P. et al. Differential structure of atrial and ventricular KATP: Atrial KATP channels require SUR1 // *Circ. Res*. 2008. Vol. 103, № 12. P. 1458–1465.
28. Fedorov V. V. et al. Effects of KATP channel opens diazoxide and pinacidil in coronary-perfused atria and ventricles from failing and non-failing human hearts // *J. Mol. Cell. Cardiol*. 2011. Vol. 51, № 2. P. 215–225.
29. Foster M.N., Coetzee W.A. KATP Channels in the Cardiovascular System // *Physiol. Rev*. 2016. Vol. 96, № 1. P. 177–252.
30. Baron A. et al. A Novel KATP Current in Cultured Neonatal Rat Atrial Appendage Cardiomyocytes // *Circ. Res*. 1999. Vol. 85. P. 707–715.
31. Van Wagoner D.R. Mechanosensitive gating of atrial ATP-sensitive potassium channels. // *Circ. Res*. 1993. Vol. 72, № 5. P. 973–983.
32. Barajas-Martínez H. et al. Molecular genetic and functional association of Brugada and early repolarization syndromes with S422L missense mutation in KCNJ8 // *Hear. Rhythm*. 2012. Vol. 9, № 4. P. 548–555.
33. Crotti L. et al. Spectrum and Prevalence of Mutations Involving BrS1- Through BrS12-Susceptibility Genes in a Cohort of Unrelated Patients Referred for Brugada Syndrome Genetic Testing // *J. Am. Coll. Cardiol*. 2012. Vol. 60, № 15. P. 1410–1418.
34. Delaney J.T. et al. A KCNJ8 mutation associated with early repolarization and atrial fibrillation // *Europace*. 2012. Vol. 14, № 10. P. 1428–1432.
35. Haïssaguerre M. et al. Ventricular fibrillation with prominent early repolarization associated with a rare variant of KCNJ8/KATP channel // *J. Cardiovasc. Electrophysiol*. 2009. Vol. 20, № 1. P. 93–98.
36. Medeiros-Domingo A. et al. Gain-of-function mutation S422L in the KCNJ8-encoded cardiac KATP channel Kir6.1 as a pathogenic substrate for J-wave syndromes // *Hear. Rhythm*. Elsevier Inc., 2010. Vol. 7, № 10. P. 1466–1471.
37. Veeramah K.R. et al. The KCNJ8-S422L variant previously associated with J-wave syndromes is found at an increased frequency in Ashkenazi Jews // *Eur. J. Hum. Genet*. 2014. Vol. 22, № 1. P. 94–98.
38. Miki T. et al. Mouse model of Prinzmetal angina by disruption of the inward rectifier Kir6.1 // *Nat. Med*. 2002. Vol. 8, № 5. P. 466–472.
39. Chutkow W.A. et al. Episodic coronary artery vasospasm and hypertension developed in the absence of Sur2 KATP channels // *J. Clin. Invest*. 2002. Vol. 110, № 2. P. 203–208.
40. Daut J. et al. Hypoxic dilation of coronary arteries is mediated by ATP-sensitive potassium channels // *Science* (80-). 1990. Vol. 247, № 4948. P. 1341–1344.
41. Duncker D.J. et al. Endogenous adenosine mediates coronary vasodilation during exercise after K⁺ATP channel blockade // *J. Clin. Invest*. 1995. Vol. 95, № 1. P. 285–295.
42. Duncker D.J. et al. Role of K⁺ATP Channels in Coronary Vasodilation During Exercise // *Circulation*. 1993. Vol. 88, № 3. P. 1245–1253.
43. Malester B. et al. Transgenic expression of a dominant negative KATP channel subunit in the mouse endothelium: effects on coronary flow and endothelin-1 secretion // *FASEB J*. 2007. Vol. 21, № 9. P. 2162–2172.
44. Chutkow W.A. et al. Episodic coronary artery vasospasm and hypertension develop in the absence of Sur2 KATP channels // *J. Clin. Invest*. 2002. Vol. 110, № 2. P. 203–208.
45. Noma A. ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle // *Nature*. 1983. Vol. 305. P. 147–148.
46. Garlid K.D. Cation transport in mitochondria — The potassium cycle // *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg*. 1996. Vol. 1275, № 1–2. P. 123–126.
47. Fryer R.M. et al. Ischemic preconditioning in rats: role of mitochondrial KATP channel in preservation of mitochondrial function // *Am. J. Physiol. Circ. Physiol*. 2000. Vol. 278, № 1. P. H305–H312.
48. Oe K. et al. Modulation of norepinephrine release by ATP-dependent K⁺ channel activators and inhibitors in guinea-pig and human isolated right atrium // *Cardiovasc. Res*. 1999. Vol. 43, № 1. P. 125–134.
49. Stanley C.A., Baker L. Hyperinsulinism in Infancy: Diagnosis by Demonstration of Abnormal Response to Fasting Hypoglycemia // *Pediatrics*. 1976. Vol. 57, № 5. P. 702–711.
50. Thomas P.M. et al. Mutations in the sulphonylurea receptor gene in familial persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy // *Science*. 1995. Vol. 268, № 5209. P. 426–429.
51. Nestorowicz A. et al. Mutations in the sulphonylurea receptor gene are associated with familial hyperinsulinism in Ashkenazi Jews // *Hum. Mol. Genet*. 1996. Vol. 5, № 11. P. 1813–1822.
52. Otonkoski T. et al. A point mutation inactivating the sulphonylurea receptor causes the severe form of persistent hyperinsulinemic

- hypoglycemia of infancy in Finland // *Diabetes*. 1999. Vol. 48, № 2. P. 408–415.
53. Nestorowicz A. et al. Genetic Heterogeneity in Familial Hyperinsulinism // *Hum. Mol. Genet*. 1998. Vol. 7, № 7. P. 1119–1128.
 54. Thomas P., Ye Y., Lightner E. Mutation of the pancreatic islet inward rectifier Kir6.2 also leads to familial persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy // *Hum. Mol. Genet*. 1996. Vol. 5, № 11. P. 1809–1812.
 55. Nestorowicz A. et al. A nonsense mutation in the inward rectifier potassium channel gene, Kir6.2, is associated with familial hyperinsulinism // *Diabetes*. 1997. Vol. 46, № 11. P. 1743–1748.
 56. Pinney S.E. et al. Clinical characteristics and biochemical mechanisms of congenital hyperinsulinism associated with dominant KATP channel mutations // *J. Clin. Invest*. 2008. Vol. 118, № 8. P. 2877–2886.
 57. Babenko A.P. et al. Activating Mutations in the ABCC8 Gene in Neonatal Diabetes Mellitus // *N. Engl. J. Med*. 2006. Vol. 355, № 3. P. 456–466.
 58. Yorifuji T. et al. The C42R mutation in the Kir6.2 (KCNJ11) gene as a cause of transient neonatal diabetes, childhood diabetes, or later-onset, apparently type 2 diabetes mellitus // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2005. Vol. 90, № 6. P. 3174–3178.
 59. Shimomura K. et al. A novel mutation causing DEND syndrome: A treatable channelopathy of pancreas and brain // *Neurology*. 2007. Vol. 69, № 13. P. 1342–1349.
 60. Shimomura K. et al. The first clinical case of a mutation at residue K185 of Kir6.2 (KCNJ11): A major ATP-binding residue // *Diabet. Med*. 2010. Vol. 27, № 2. P. 225–229.
 61. Edghill E.L. et al. Activating mutations in the KCNJ11 gene encoding the ATP-sensitive K⁺ channel subunit Kir6.2 are rare in clinically defined type 1 diabetes diagnosed before 2 years // *Diabetes*. 2004. Vol. 53, № 11. P. 2998–3001.
 62. Vedovato N. et al. Neonatal diabetes caused by a homozygous KCNJ11 mutation demonstrates that tiny changes in ATP sensitivity markedly affect diabetes risk // *Diabetologia*. 2016. Vol. 59, № 7. P. 1430–1436.
 63. Shimomura K., Maejima Y. KATP Channel Mutations and Neonatal Diabetes // *Intern. Med*. 2017. Vol. 56, № 18. P. 2387–2393.
 64. Proks P. et al. Mechanism of action of a sulphonylurea receptor SUR1 mutation (F132L) that causes DEND syndrome // *Hum. Mol. Genet*. 2007. Vol. 16, № 16. P. 2011–2019.
 65. Proks P. et al. A heterozygous activating mutation in the sulphonylurea receptor SUR1 (ABCC8) causes neonatal diabetes // *Hum. Mol. Genet*. 2006. Vol. 15, № 11. P. 1793–1800.
 66. Männikkö R. et al. A conserved tryptophan at the membrane-water interface acts as a gatekeeper for Kir6.2/SUR1 channels and causes neonatal diabetes when mutated // *J. Physiol*. 2011. Vol. 589, № 13. P. 3071–3083.
 67. Gloyn A.L. et al. Activating Mutations in the Gene Encoding the ATP-Sensitive Potassium-Channel Subunit Kir6.2 and Permanent Neonatal Diabetes // *N. Engl. J. Med*. 2004. Vol. 350, № 18. P. 1838–1849.
 68. Hani E.H. et al. Missense mutations in the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K⁺ channel gene (KIR6.2/BIR): A meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of Type II diabetes mellitus in Caucasians // *Diabetologia*. 1998. Vol. 41, № 12. P. 1511–1515.
 69. Souza S.W. et al. Polymorphism E23K (rs5219) in the KCNJ11 gene in Euro-Brazilian subjects with type 1 and 2 diabetes // *Genet. Mol. Res*. 2017. Vol. 16, № 2. P. 1–9.
 70. Sokolova E.A. et al. Replication of KCNJ11 (p.E23K) and ABCC8 (p.S1369A) association in Russian diabetes mellitus 2 type cohort and meta-analysis // *PLoS One*. 2015. Vol. 10, № 5. P. 1–21.
 71. Gloyn A.L. et al. Large-Scale Association Studies of Variants in Genes Encoding the Pancreatic β -Cell KATP Channel Subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) Confirm That the KCNJ11 E23K Variant Is Associated with Type 2 Diabetes // *Diabetes*. 2003. Vol. 52, № February. P. 568–572.
 72. Schwanstecher C., Meyer U., Schwanstecher M. KIR6.2 Polymorphism Predisposes to T2D by Inducing Overactivity of β -Cell ATP-Sensitive K⁺ Channels // *Diabetes*. 2002. Vol. 51, № 3. P. 875–879.
 73. Carstensen B. et al. The E23K Variant of Kir6.2 Associates With Impaired Post-OGTT Serum Insulin Response and Increased Risk of Type 2 Diabetes // *Diabetes*. 2003. Vol. 52, № 2. P. 573–577.
 74. Florez J.C. et al. Haplotype structure and genotype phenotype correlations of the sulphonylurea receptor and the islet ATP-sensitive potassium channel gene region. // *Diabetes*. 2004. Vol. 53, № May. P. 1360–1368.
 75. Hamming K.S.C. et al. Coexpression of the Type 2 Diabetes Susceptibility Gene ATP and Sulfonylurea Sensitivities of the ATP-Sensitive K⁺ Channel // *Diabetes*. 2009. Vol. 58, № 10. P. 2419–2424.
 76. Reyes S. et al. KATP channel Kir6.2 E23K variant overrepresented in human heart failure is associated with impaired exercise stress response // *Hum. Genet*. 2009. Vol. 126, № 6. P. 779–789.
 77. Reyes S. et al. KATP channel polymorphism is associated with left ventricular size in hypertensive individuals: A large-scale community-based study // *Hum. Genet*. 2008. Vol. 123, № 6. P. 665–667.
 78. Watanabe Y. et al. Electrophysiological analyses of transgenic mice overexpressing KCNJ8 with S422L mutation in cardiomyocytes // *J. Pharmacol. Sci*. 2017. Vol. 135, № 1. P. 37–43.
 79. Cooper P.E. et al. Cantú Syndrome Resulting from Activating Mutation in the KCNJ8 Gene // *Hum. Mutat*. 2014. Vol. 35, № 7. P. 809–813.
 80. Giudicessi J.R., Ackerman M.J. Potassium-channel mutations and cardiac arrhythmias - Diagnosis and therapy // *Nat. Rev. Cardiol*. 2012. Vol. 9, № 6. P. 319–332.
 81. Cantú J.M. et al. A distinct osteochondrodysplasia with hypertrichosis-Individualization of a probable autosomal recessive entity // *Hum. Genet*. 1982. Vol. 60, № 1. P. 36–41.
 82. Van Bon B.W.M. et al. Cantú syndrome is caused by mutations in ABCC9 // *Am. J. Hum. Genet*. 2012. Vol. 90, № 6. P. 1094–1101.
 83. Harakalova M. et al. Dominant missense mutations in ABCC9 cause Cantú syndrome // *Nat. Genet*. 2012. Vol. 44, № 7. P. 793–796.
 84. Brownstein C.A. et al. Mutation of KCNJ8 in a patient with Cantú syndrome with unique vascular abnormalities – Support for the role of KATP channels in this condition // *Eur. J. Med. Genet. Elsevier Masson SAS*, 2013. Vol. 56, № 12. P. 678–682.
 85. McClenaghan C. et al. Glibenclamide reverses cardiovascular abnormalities of Cantu syndrome driven by KATP channel overactivity // *J. Clin. Invest*. 2020. Vol. 130, № 3. P. 1116–1121.
 86. Messenger A.G., Rundegren J. Minoxidil: mechanisms of action on hair growth // *Br. J. Dermatol*. 2004. Vol. 150, № 2. P. 186–194.
 87. Kaler S.G. et al. Hypertrichosis and congenital anomalies associated with maternal use of minoxidil // *Pediatrics*. 1987. Vol. 79, № 3. P. 434–436.
 88. Nguyen K.H., Marks J.G. Pseudoacromegaly induced by the long-term use of minoxidil // *J. Am. Acad. Dermatol. Mosby*, 2003. Vol. 48, № 6. P. 962–965.
 89. Bienengraeber M. et al. ABCC9 mutations identified in human dilated cardiomyopathy disrupt catalytic KATP channel gating // *Nat. Genet*. 2004. Vol. 36, № 4. P. 382–387.
 90. Smeland M.F. et al. ABCC9-related Intellectual disability Myopathy Syndrome is a KATP channelopathy with loss-of-function mutations in ABCC9 // *Nat. Commun*. 2019. Vol. 10, № 1. P. 4457.
 91. Hagiwara S. et al. Blocking effects of barium and hydrogen ions on the potassium current during anomalous rectification in the starfish egg // *J. Physiol*. 1978. Vol. 279, № 1. P. 167–185.
 92. Oonuma H. et al. Inward Rectifier K⁺ Current in Human Bronchial Smooth Muscle Cells // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol*. 2012. Vol. 26, № 3. P. 371–379.
 93. Hagiwara S. Potassium current and the effect of cesium on this current during anomalous rectification of the egg cell membrane of a starfish // *J. Gen. Physiol*. 1976. Vol. 67, № 6. P. 621–638.
 94. Jin W., Lu Z. A Novel High-Affinity Inhibitor for Inward-Rectifier K⁺ Channels // *Biochemistry*. 1998. Vol. 37, № 38. P. 13291–13299.
 95. Ramu Y., Xu Y., Lu Z. Engineered specific and high-affinity inhibitor for a subtype of inward-rectifier K⁺ channels // *Proc. Natl. Acad. Sci*. 2008. Vol. 105, № 31. P. 10774–10778.
 96. Takanari H. et al. Efficient and specific cardiac IK1 inhibition by a new pentamidine analogue // *Cardiovasc. Res*. 2013. Vol. 99, № 1. P. 203–214.
 97. Ji Y. et al. PA-6 inhibits inward rectifier currents carried by V93I and D172N gain-of-function KIR2.1 channels, but increases channel protein expression // *J. Biomed. Sci. Journal of Biomedical Science*, 2017. Vol. 24, № 1. P. 1–10.
 98. Swale D.R. et al. Article Computational and Functional Analyses of a Small-Molecule Binding Site in ROMK // *Biophys. Biophysical Society*, 2015. Vol. 108, № 5. P. 1094–1103.
 99. Aréchiga-Figueroa I.A. et al. High-potency block of Kir4.1 channels by pentamidine: Molecular basis // *Eur. J. Pharmacol*. 2017. Vol. 815. P. 56–63.
 100. De Boer T. et al. The anti-protozoal drug pentamidine blocks KIR2.x-mediated inward rectifier current by entering the cytoplasmic pore region of the channel // *Br. J. Pharmacol*. 2010. Vol. 159, № 7. P. 1532–1541.
 101. Imredy J.P., Chen C., MacKinnon R. A snake toxin inhibitor of inward rectifier potassium channel ROMK1 // *Biochemistry*. 1998. Vol.

- 37, № 42. P. 14867–14874.
102. Wu M. et al. A potent and selective small molecule Kir2.1 inhibitor // *Probe Reports from NIH Mol. Libr. Progr.* 2010. P. 1–23.
103. Kharade S. et al. Pore polarity and charge determine differential block of Kir1.1 and Kir7.1 potassium channels by the small-molecule inhibitor VU590 // *Mol. Pharmacol.* 2017. Vol. 37232. P. mol.117.108472.
104. Lewis L.M. et al. High-throughput screening reveals a small-molecule inhibitor of the renal outer medullary potassium channel and Kir7.1 // *Mol. Pharmacol.* 2009. Vol. 76, № 5. P. 1094–1103.
105. Bhave G. et al. Development of a Selective Small-Molecule Inhibitor of Kir1.1, the Renal Outer Medullary Potassium Channel // *Mol. Pharmacol.* 2011. Vol. 79, № 1. P. 42–50.
106. Kharade S. V. et al. Discovery, Characterization, and Effects on Renal Fluid and Electrolyte Excretion of the Kir4.1 Potassium Channel Pore Blocker, VU0134992 // *Mol. Pharmacol.* 2018. Vol. 94, № 2. P. 926–937.
107. Swale D.R. et al. ML418: The First Selective, Sub-Micromolar Pore Blocker of Kir7.1 Potassium Channels // *ACS Chem. Neurosci.* 2016. Vol. 7, № 7. P. 1013–1023.
108. Scherer D. et al. Inhibition of inwardly rectifying Kir2.x channels by the novel anti-cancer agent gambogic acid depends on both pore block and PIP2 interference // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 2017. Vol. 390, № 7. P. 701–710.
109. Zünkler B.J. et al. Cytosolic ADP enhances the sensitivity to tolbutamide of ATP-dependent K⁺ channels from pancreatic B-cells // *FEBS Lett.* 1988. Vol. 239, № 2. P. 241–244.
110. Venkatesh N., Lamp S.T., Weiss J.N. Sulfonylureas, ATP-sensitive K⁺ channels, and cellular K⁺ loss during hypoxia, ischemia, and metabolic inhibition in mammalian ventricle // *Circ. Res.* 1991. Vol. 69, № 3. P. 623–637.
111. Martin G.M. et al. Cryo-EM structure of the ATP-sensitive potassium channel illuminates mechanisms of assembly and gating // *Elife.* 2017. Vol. 6. P. 1–21.
112. Martin G.M. et al. Anti-diabetic drug binding site in a mammalian KATP channel revealed by Cryo-EM // *Elife.* 2017. Vol. 6. P. 172908.
113. Li N. et al. Structure of a Pancreatic ATP-Sensitive Potassium Channel // *Cell.* 2017. Vol. 168, № 1–2. P. 101–110.e10.
114. M Ashcroft F. et al. New windows on the mechanism of action of KATP channel openers // *Trends Pharmacol. Sci.* 2000. Vol. 21, № November. P. 439–445.
115. Yokoshiki H. et al. Levosimendan, a novel Ca²⁺ sensitizer, activates the glibenclamide-sensitive K⁺ channel in rat arterial myocytes // *Eur. J. Pharmacol.* 1997. Vol. 333, № 2–3. P. 249–259.
116. Yokoshiki H. et al. The novel calcium sensitizer levosimendan activates the ATP-sensitive K⁺ channel in rat ventricular cells // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1997. Vol. 283, № 1. P. 375–383.
117. Kaheinen P. et al. Levosimendan increases diastolic coronary flow in isolated guinea-pig heart by opening ATP-sensitive potassium channels // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 2001. Vol. 37, № 4. P. 367–374.
118. Wu S.N., Wu A.Z., Sung R.J. Identification of two types of ATP-sensitive K⁺ channels in rat ventricular myocytes // *Life Sci.* 2007. Vol. 80, № 4. P. 378–387.
119. Paggio A. et al. Identification of an ATP-sensitive potassium channel in mitochondria // *Nature.* 2019. Vol. 572, № 7771. P. 609–613.

Поддержать
Medach



Наш сайт



Medach в FB

Medach в VK



Medach в Youtube

Medach в Telegram



Сообщество Sons of Medicine