УДК 577.352:612.014.42

ВПЛИВ ГІПОКСІЇ НА КАЛІЄВІ ТА НАТРІЄВІ СТРУМИ

А. С. Нерпій[1], В. А. Яворський[2]

[1] Навчально-науковий Фізико-технічний інститут

[2] Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України

Анотація

Було роведено огляд впливу гіпоксії на калієві та натрієві струми. Проаналізовано зміщення мембранного потенціалу,процеси руйнування іонних каналів та погіршена робота клітинної активності, за допомогою огляду літератури та порівняння з наявними дослідженнями.

Ключові слова: гіпоксія, нейрони, натрієві струми, калієві струми.

Вступ

На сьогоднішній день одним із найбільш актуальних напрямків досліджень у нейробіології є аналіз механізмів, що виникають у головному мозку при недостатньому забезпеченні киснем, іншими словами гіпоксії . Гіпоксичні стани є характерними для низки патологій, таких як інсульт, ішемія мозку, черепно-мозкові травми та нейродегенеративні захворювання. Моделювання цих процесів сприятиме розумінню основних принципів роботи нервової системи в екстремальних умовах.

1. Поняття гіпоксії

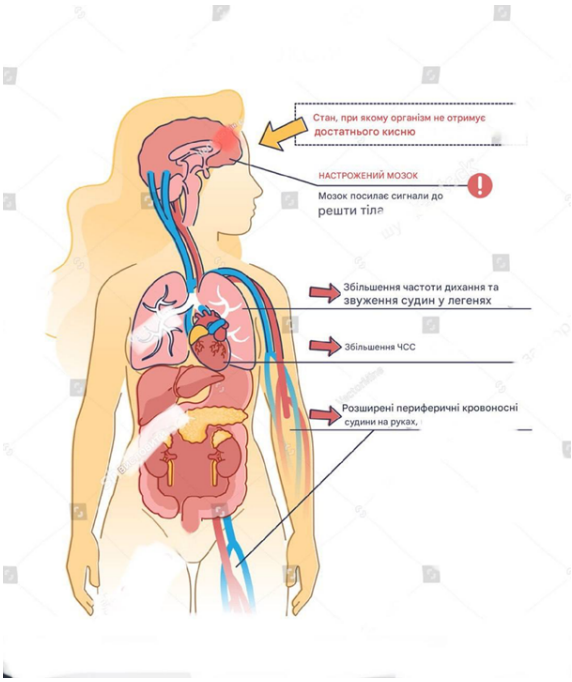

Рис. 1. Схема впливів гіпоксії на органи мішені

Гіпоксія — зниження рівня кисню, що надходить до органів і тканин організму. Викликаний цією недостатністю стан, сильно впливає зокрема на енергетичні потреби клітин, тканини і органи [1]. Вплив на функціонування нейронів відбувається через зниження АТФ, що спричиняє деполяризацію мембрани, дисбаланс іонів та неефективну роботу іонних каналів. Основними механізмами є активація іонних каналів і вивільнення позаклітинного АТФ до токсичних рівнів, що посилює пошкодження тканин.

2. Вплив гіпоксії на потенціал-залежні калієві струми

Гіпоксія значно знижує активність нейронів у зоні CA1 гіпокампу, але відновлюється при реоксигенації [2]. Зміни густини утримуваного ректифікаційного калієвого струму (I_{DR}), а також зміна в бік деполяризації інактивації струму A-типу (I_A), який повернувся до норми після реперфузії, пов'язані з цим ефектом. Відомо, що частина вхідного опору та збудливості нейронів залежать від функціонування потенціал-залежних K_V-каналів, а кінетика та щільність їх струму регулюються станом фосфорилювання [3, 4]. Ці процеси тісно пов'язані зі зміненою активністю фосфатаз, які запускаються в умовах ішемії чи гіпоксії [5, 6]. Застосування блокаторів K_V-каналів, наприклад, тетраетиламонію (TEA) або донезепілу, може врятувати клітини від пошкодження клітин внаслідок гіпоксії-реперфузії [7].

Експерименти показали, що застосування гіпоксичного навколишнього середовища (8% O_2, 5% CO_2, 87% N_2 і 10 μг/мл LPS) протягом 15 хвилин зменшило вхідний опір нейронів зі 137 ± 6 МОм до 107 ± 6 МОм. Одночасно частота генерації знизилася з 15–20 Гц до 5 Гц [**2**]. Густина струму I_A майже не змінилася, але криві розпаду змістилися в бік деполяризації та повернулися до норми після реперфузії. Таким чином, напівпотенціал V_h змінювався від -55 ± 1 мВ до -48 ± 1 мВ протягом 10 хв гіпоксії. Крім того, густина струму I_A при -62 мВ зросла з

39 ± 3 пА/пФ до 48 ± 4 пА/пФ.

У випадку використання струму I_{DR} при гіпоксії його густина зростала на 10% (із 170 ± 12 pA/pF до 198 ± 14 pA/pF), проте після реоксигенації зменшилася до 60% від початкового рівня (120 ± 13 pA/pF). Також було помітно, що активаційні криві I_{DR} зміщувалися в деполяризаційний напрямок: V_h змінювався з -7.8 ± 1.8 мВ до -17 ± 2 мВ протягом перших 15 хв.

Отже, регулювання діяльності калієвих каналів K_V під час гіпоксії дублювало реперфузію, що, мабуть, є вирішальним у зміні збудливості нейронів, через зміни в кінетиці струмів і вході. Дослідження [8] підтверджувало, що канали K_V були чутливими до тиску кисню (PO_2) шляхом зміни ймовірності відкриття, під дією активних форм кисню, які є додатковими сигналами стресу для клітини. Зміни в гіпоксії: 27 мм рт. ст. змінювали потенціали дії, збудливість і провідність у нейронах молодих щурів DRG [9].

3. Вплив гіпоксії на кальцій-активовані калієві струми

Деякі дослідники, припускаючи відсутність впливу гіпоксії на функцію maxi-K+ каналів, припускають [10], що потенціал-залежні Kv-канали та maxi-K+ канали не беруть центральної участі в індукованій гіпоксією деполяризації мембранного потенціалу, а скоріше діють проти деполяризації та запобігають надмірному відкриттю кальцієвих каналів. Це стосується чутливих до кисню клітин нервового гребеня (основних клітин або клітин типу I), розташованих у каротидному тілі. У той же час, встановлення мембранного потенціалу значною мірою залежить від фонових калієвих каналів низької провідності (SK-каналів), і їх блокування (наприклад, за допомогою 4-AP+TEA або Ibtx) може значно підвищити внутрішньоклітинні рівні кальцію.

Важливість SK-каналів підтверджується також відкриттям про те, що під час гострої гіпоксії (приблизно 25 мм рт. ст.) струм калію в хромафінних клітинах щурів зменшується більш ніж наполовину [11]. Апамін у концентрації 400 нМ був здатний усунути цей ефект, що вказує на критичну роль чутливого до апаміну компонента цього струму у відповіді, спричиненій гіпоксією. Крім того, було виявлено, що гіпоксія індукує деполяризацію мембранного потенціалу, і це також було заблоковано апаміном, який виявився залежним від кальцій-залежних струмів ISK у гіпоксичній деполяризації. Інші дослідження [12] показали, що канали SK2 впливають на поріг стимуляції для синаптичної пластичності в гіпокампі, модифікують збудливі постсинаптичні потенціали (EPSP), необхідні для індукції довготривалої потенціації (LTP). Показано, що підвищена активність каналів SK2 негативно впливає на навчання, викликає погіршення пам'яті та прискорює нейродегенеративні процеси.

Таким чином, серед різних типів калієвих каналів тільки кальцій-залежні канали SK з малою провідністю є високочутливими до гіпоксії. Вони можуть викликати локальну деполяризацію клітин та підвищення кількості клітинного кальцію.

4. Вплив гіпоксії на натрієві струми

Вплив гіпоксії на натрієві струми Потенціал-залежні натрієві канали відіграють важливу роль у регулюванні патофізіологічних (наприклад, гіпоксичних) процесів [13, 14]. Гіпоксичне або ішемічне модифікування активності натрій-каналів є першою реакцією на гіпоксію на рівні нейронів CA1 гіпокампу. Це трапляється протягом перших 1–3 хвилин [13].

Пригнічення активності натрієвих каналів сприяє зниженню надходження іонів натрію в нейрони, що, у свою чергу, зменшує енергетичні витрати в умовах порушення вироблення енергії [13]. Це збільшує витривалість нейронів до низького рівня кисню, а інгібування INa розглядають як один із захисних механізмів клітини на ранніх стадіях гіпоксії [14]. Блокатори натрієвих каналів мають нейропротективний ефект при гіпоксії [15] і допомагають нейронам адаптуватись до кисневої недостатності, знижуючи енергетичні витрати на тлі порушення обміну речовин [16].

При цьому гіпоксія активує шлях убіквітиноподібного модифікатора SUMO в гранулярних нейронах мозочка (CGN), що впливає на функціонування $Na_V1.2$ каналів і збільшує натрієвий струм [17]. Індуковане з'єднання SUMO1 з цими каналами відбувається протягом 40 секунд після гіпоксії. Загалом це визначає залежність активації від мембранної напруги в бік зменшення порогу їх відкриття.

Наприклад, у контрольних умовах (21% O_2) I_{Na} становив -172 ± 20 пА/пФ при -20 мВ із середнім $V_{1/2} = -23 \pm 0{,}5$ мВ і порогом інактивації -67 ± 2 мВ. Після застосування розчину, що індукує гіпоксію (5% O_2), I_{Na} збільшився на 70% і досяг -294 ± 25 пА/пФ, а $V_{1/2}$ було зміщено вліво на -11 ± 2 мВ, що призвело до підвищення реактивності нейронів на стимуляцію.

Висновки

Гіпоксія суттєво впливає на роботу іонних каналів, які визначають збудливість і функціонування нейронів, зокрема потенціал-залежних калієвих, кальцій-активованих калієвих і натрієвих каналів.

Гіпоксія знижує активність нейронів через зміни густини калієвих струмів. Ці зміни призводять до деполяризації мембрани та коригуються після реоксигенації. Гіпоксія суттєво змінює роботу калієвих і натрієвих каналів у нейронах, регулюючи їх кінетику, активність і експресію.

Це призводить до деполяризації мембрани, порушення йонного гомеостазу та підвищеної вразливості до пошкоджень. Пошук способів корекції функціонування іонних каналів, зокрема шляхом блокаторів або генетичного регулювання, має великий потенціал для терапії, спрямованої на зниження наслідків гіпоксії.

Перелік використаних джерел

1. *Furst J.* What is Hypoxia? A First Aid Guide. —

19.01.2023. — URL: https://www.firstaidforfree.com/what-is-hypoxia-a-first-aid-guide/ (дата зверн. 01.12.2023).

2. *Yang Y.-S.*, *Choi J. H.*, *Rah J.-C.* Hypoxia with inflammation and reperfusion alters membrane resistance by dynamically regulating voltage-gated potassium channels in hippocampal CA1 neurons. — Molecular Brain, 2021. — 12 с. — ISBN 069114558X.
3. *Cerda O.*, *Trimmer J. S.* Analysis and functional implications of phosphorylation of neuronal voltage-gated potassium channels // Neuroscience Letters. — 2010. — Т. 486. — С. 60—67.
4. *Qiu M.-H.*, *Zhang R.*, *Sun F.-Y.* Enhancement of ischemia-induced tyrosine phosphorylation of Kv1.2 by vascular endothelial growth factor via activation of phosphatidylinositol 3-kinase // Journal of Neurochemistry. — 2003. — Т. 87. — С. 1509—1517.
5. *Tanaka K.* Alteration of second messengers during acute cerebral ischemia—adenylate cyclase, cyclic AMP-dependent protein kinase, and cyclic AMP response element binding protein // Progress in Neurobiology. — 2001. — Т. 65. — С. 173—207.
6. *Gozal E.*, *Metz C. J.*, *Dematteis M.* PKA activity exacerbates hypoxia-induced ROS formation and hypoxic injury in PC-12 cells // Toxicology Letters. — 2017. — Т. 279. — С. 107—114.
7. *Yuan H.*, *Wang W.-P.*, *Feng N.* Donepezil attenuated oxygen-glucose deprivation insult by blocking Kv2.1 potassium channels // European Journal of Pharmacology. — 2011. — Т. 657. — С. 76—83.
8. *Lopez-Barneo J.*, *Pardal R.*, *Ortega-Sáenz P.* Cellular mechanism of oxygen sensing // Annual Review of Physiology. — 2001. — Т. 63. — С. 259—287.
9. *Gruss M.*, *Ettorre G.*, *Stehr A. J.* Moderate hypoxia influences excitability and blocks dendrotoxin sensitive K+ currents in rat primary sensory neurones // Molecular Pain. — 2006. — Т. 2. — С. 12.
10. *Wang J.*, *Kim D.* Activation of voltage-dependent K+ channels strongly limits hypoxia-induced elevation of [Ca2+]i in rat carotid body glomus cells // Journal of Physiology. — 2018. — Т. 596. — С. 3119—3136.
11. *Lee J.*, *Lim W.*, *Eun S. Y.* Inhibition of apamin-sensitive K+ current by hypoxia in adult rat adrenal chromaffin cells // Pflügers Archiv. — 2000. — Т. 439. — С. 700—704.
12. *Kushwah N.*, *Jain V.*, *Kadam M.* Ginkgo biloba L. prevents hypobaric hypoxia-induced spatial memory deficit through small conductance calcium-activated potassium channel inhibition: The role of ERK/CaMKII/CREB signaling // Frontiers in Pharmacology. — 2021. — Т. 12. — С. 669701.
13. *O'Reilly J. P.*, *Cummins T. R.*, *Haddad G. G.* Oxygen deprivation inhibits Na+ current in rat hippocampal neurones via protein kinase C // Journal of Physiology. — 1997. — Т. 503, Pt 3. — С. 479—488.
14. *Dong X.-P.*, *Xu T.-L.* Radix paeoniae rubra suppression of sodium current in acutely dissociated rat hippocampal CA1 neurons // Brain Research. — 2002. — Т. 940. — С. 1—9.
15. *Docherty R. J.*, *Farmer C. E.* The pharmacology of voltage-gated sodium channels in sensory neurones // Handbook of Experimental Pharmacology. — 2009. — С. 519—561.
16. *Calabresi P.*, *Pisani A.*, *Mercuri N. B.* On the mechanisms underlying hypoxia-induced membrane depolarization in striatal neurons // Brain. — 1995. — Т. 118, Pt 4. — С. 1027—1038.
17. *Plant L. D.*, *Marks J. D.*, *Goldstein S. A.* SUMOylation of NaV1.2 channels mediates the early response to acute hypoxia in central neurons // eLife. — 2023. — Т. 12. — e20054.