

ОГЛЯДИ

УДК 577.352.4

АТР-ЧУТЛИВІ K^+ -КАНАЛИ М'ЯЗОВИХ КЛІТИН: ВЛАСТИВОСТІ ТА ФІЗІОЛОГІЧНА РОЛЬ

О. Б. ВАДЗЮК

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;
e-mail: vadzyuk@biochem.kiev.ua

АТР-чутливі K^+ -канали ($K_{\text{АТР}}$ -канали) належать до типу K^+ -каналів вхідного випрямлення (K^+ inward rectifier або Kir). Вони поєднують електричну активність м'язової клітини з її метаболічним станом. Каналоутворювальні субодиниці $K_{\text{АТР}}$ -каналів (Kir б.х) містять високоселективний фільтр та мають високу провідність для K^+ , тоді як регуляторні SUR субодиниці (sulfonyl urea receptor) містять сайти зв'язування активаторів і блокаторів, та несуть метаболічний сенсор, який відповідає за активацію каналу в умовах метаболічного стресу. Провідність $K_{\text{АТР}}$ -каналів міоцитів більшості типів блокується АТР. Однак робота цих каналів залежить не від абсолютних значень концентрації АТР, а від співвідношень АТР/АДР і присутності Mg^{2+} . Також регуляція активності $K_{\text{АТР}}$ -каналів у клітині здійснюється фізіологічними речовинами, такими як фосфатидилінозитол-дифосфат, ефіри жирних кислот. Активацію цих структур за умов ішемії пов'язують з їх цитопротекторною дією, яка попереджає перевантаження цитозолю Ca^{2+} . На відміну від $K_{\text{АТР}}$ -каналів плазматичної мембрани, субодиниці яких клоновані і структура відома, дані стосовно АТР-чутливого переносника K^+ в мітохондріальній мембрані (міто $K_{\text{АТР}}$) суперечливі. Зокрема, досі вірогідно не ідентифіковано його каналоутворювальну субодиницю, роль якої можуть виконувати Kir б.х, Kir 1.1 (каналоутворювальна субодиниця каналу ROMK) або інші структури. В огляді обговорюються методи реєстрації АТР-чутливого транспортування K^+ в мітохондріях. Розглянуто взаємодію міто $K_{\text{АТР}}$ з фізіологічними та фармакологічними лігандами.

Ключові слова: міоцити, іони K , $K_{\text{АТР}}$ -канал, Kir, SUR, міто $K_{\text{АТР}}$

М'язові тканини виконують безліч важливих функцій, які визначаються їхнім типом. Це регуляція серцевої діяльності, тонуусу судин, репродуктивна функція (міометрій), рухова (скелетні м'язи) та ін. Регуляція тонуусу м'язів має надзвичайно важливе значення в їх функціонуванні. Серед великої кількості типів іонних каналів, задіяних у цьому процесі, K^+ транспортувальні іонні канали (K^+ -канали) відіграють особливу роль, оскільки їх активація призводить до розслаблення м'яза. Тому саме вони вважаються головними регуляторами скоротливої активності м'язів. Важлива роль у регуляції м'язового збудження належить АТР-чутливим K^+ -каналам ($K_{\text{АТР}}$ -каналам), що визначається особливостями їх активації за стресових умов. Метою роботи було узагальнити сучасні знання щодо струк-

тури та функціонування $K_{\text{АТР}}$ -каналів, а також з'ясувати їх роль у забезпеченні функціонування м'язів. В огляді коротко розглянуто основні типи K^+ -каналів м'язових клітин, особливу увагу приділено $K_{\text{АТР}}$ -каналам. Висвітлено стан сучасних досліджень стосовно їхньої структури, способів регуляції та фізіологічної ролі в різних м'язових тканинах. Окремо розглянуто АТР-чутливий переносник K^+ в мітохондріальній мембрані (міто $K_{\text{АТР}}$), стосовно структурної ідентифікації якого досі немає узгодженої думки.

Типи калієвих каналів плазматичної мембрани м'язових клітин

K^+ -канали – це високоселективні K^+ -транспортувальні структури, що забезпечують калієву провідність крізь плазматичну мембрану, підтримуючи своїм функціонуванням низку

життєво важливих процесів, таких як регуляція об'єму клітини, секреція гормонів, регуляція скорочення м'язів, збудження нервових клітин ін. Всі відомі типи K^+ -каналів є представниками однієї родини споріднених мембранних протеїнів, каналоутворювальні субодиниці яких містять високогомологічну послідовність, так званий селективний фільтр, який забезпечує високу ступінь вибірковості щодо K^+ [1, 2]. Іон-транспортувальна пара каналів утворена чотирма симетрично розташованими ідентичними субодиницями, всередині яких знаходиться наповнена водою порожнина. У цій порожнині позитивно заряджений іон потрапляє в оточення молекул води, що полегшує проходження зарядженої частинки крізь мембрану, яка має низьку діелектричну проникність [2]. Як було зазначено вище, канал має селективний фільтр, який є частиною пороутворювальних субодиниць. Іонзв'язувальні сайти іонного фільтра утворені атомами кисню карбонільних та гідроксильних груп, які орієнтовані у внутрішній простір пори. Завдяки взаємодії із сайтами зв'язування іони K^+ потрапляють в оточення атомів кисню. Розташування цих атомів у сайті зв'язування селективного фільтра нагадує розташування молекул води навколо гідратованого іону K^+ в центральній порожнині і забезпечує тісну взаємодію K^+ із цим сайтом [2].

Швидкість переносу іона каналом обернено пропорційна до сили взаємодії цього іона із сайтом зв'язування. Висока спорідненість селективного фільтра до K^+ повинна передбачати більшу силу взаємодії іона зі зв'язувальною ділянкою та, відповідно, меншу швидкість транспортування. Але швидкість транспортування цих іонів K^+ -каналом наближається до швидкості дифузії іона [1]. Поєднання високої селективності до іонів K^+ із значною швидкістю їх транспортування складає очевидний парадокс функціонування K^+ -каналів. Можливе пояснення цього феномену полягає в тому, що крізь селективний фільтр проходить не один, а два іони K^+ одночасно, і відштовхування між однойменно зарядженими іонами зменшує енергію взаємодії K^+ із сайтом зв'язування, а, отже, веде до збільшення швидкості переносу [1, 2].

Класифікація K^+ -каналів базується на відмінностях амінокислотних послідовностей пороутворювальних субодиниць, що забезпечує різницю в механізмах їх активації [3]. K^+ -канали

поділяють на чотири типи: потенціалзалежні, Ca^{2+} -активовані, двопородоменні та канали вхідного випрямлення [4]. Потенціалзалежні K^+ -канали широко представлені в скелетних та гладеньких м'язах (ГМ), а також у клітинах мозку та серця [4]. Вони є тетрамерами, що складаються з чотирьох пороутворювальних σ -субодиниць та допоміжних субодиниць, які модифікують властивості каналу [5, 6]. Канали цього типу активуються внаслідок деполяризації плазматичної мембрани. Вони містять так званий сенсор потенціалу – трансмембранний домен, багатий залишками аргініну та лізину. У відповідь на деполяризацію сенсор потенціалу зазнає конформаційних змін, які ведуть до відкриття каналу [1], внаслідок чого мембрана реполяризується. Канали цього типу зменшують збудливість клітин, що було, зокрема, показано на кардіоміоцитах і клітинах ГМ [3, 7].

Ca^{2+} -залежні K^+ -канали досить поширені в м'язових тканинах, де вони беруть участь у підтриманні потенціалу спокою та в розслабленні мускулатури [5, 8]. Активуючись у відповідь на підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} , вони спричиняють вихід K^+ із клітини, що призводить до гіперполяризації і інактивації потенціалзалежних Ca^{2+} -каналів та блокування входу Ca^{2+} до клітини [8, 9]. За біофізичними властивостями вони поділяються на дві групи: канали малої провідності, які активуються тільки у разі зростання концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} та канали великої провідності, що активуються як при концентрації Ca^{2+} в клітині вище 10 мкМ, так і у відповідь на деполяризацію плазматичної мембрани [9]. Обидва типи Ca^{2+} -залежних K^+ -каналів беруть участь у регуляції фізіологічних процесів у різних типах тканин, зокрема у ГМ вони контролюють їх скорочення та регулюють м'язовий тонус [10, 11].

Двopодоменні калієві канали є найбільш широко представленим типом, який відрізняється тим, що кожна каналоутворювальна субодиниця в своїй структурі містить по дві амінокислотні послідовності, які формують селективний фільтр каналу [1, 4]. Представники цього типу нечутливі до таких відомих блокаторів K^+ -каналів, як 4-амінопіридин, тетраетиламоній, Cs^+ , Ba^{2+} , але виявляють диференційну чутливість до різних факторів, таких як рН, жирні кислоти та анестетики [3].

Наприклад, канали TREK активуються жирними кислотами, у відповідь на закислення цитозолу, а також у разі механічного розтягування мембрани, у той самий час споріднені з ними канали TWIK, навпаки, блокуються у разі зниження рН нижче фізіологічних значень [12]. Двопородоменні канали належать до каналів фонові калієвої провідності. Результатом їхньої активності є гіперполяризація плазматичної мембрани та підтримання потенціалу спокою клітини [4].

K_{ATP} -канали складають окрему групу серед K^+ -каналів вхідного випрямлення [13]. Вони спряжують електричну активність плазматичної мембрани клітини з її енергетичним станом [14]. Наявність чутливого до АТФ транспорту K^+ вперше було показано на плазматичній мембрані кардіоміоцитів методом patch-clamp [15]. Блокування АТФ переносу іонів К дозволило Нота зробити припущення про чутливість цих каналів до енергетичного стану клітини та спряження ними клітинного метаболізму із електричною збудливістю кардіоміоцита [15]. Згодом наявність K_{ATP} -каналів було показано на клітинах скелетних м'язів та ГМ, клітинах підшлункової залози, нирок, на нейронах [16–18]. Вважається, що у нормальних метаболічних умовах, за яких концентрація АТФ є високою, ці структури у більшості типів м'язових тканин перебувають у закритому стані і активуються, якщо концентрація АТФ у цитоплазмі знижується до критичних значень, що зазвичай відбувається в умовах ішемії [16]. Ca^{2+} -залежні, двопородоменні та потенціалкеровані K^+ -канали, які регулюють скорочення в нормі, блокуються при ішемії та метаболічному інгібуванні [5, 19, 20]. Пригнічення K^+ -провідності плазматичної мембрани за цих умов призвело б до її деполяризації, порушення гомеостазу Ca^{2+} та загибелі клітини, але цього не відбувається саме завдяки активації K_{ATP} -каналів. Їх функціонування за ішемії призводить до гіперполяризації плазматичної мембрани, скорочення тривалості потенціалу дії, зменшення входу Ca^{2+} в цитозоль, розслаблення мускулатури та збереження енергетичних запасів клітини, що в умовах ішемії має вирішальне значення для збереження життєдіяльності клітини [14, 18]. За нормальних фізіологічних умов, коли внесок K_{ATP} -каналів у забезпечення розслаблення м'язів незначний, Ca^{2+} -залежні та потенціалкеровані

K^+ -канали миттєво активуються у відповідь на деполяризацію плазматичної мембрани та зростання концентрації Ca^{2+} в цитозолі у разі скорочення м'яза, зменшуючи цим його збудливість.

Тобто з вищенаведеного стає зрозумілим, що представники кожного типу K^+ -каналів виконують свою особливу функцію, яка визначається умовами їх активації, але спільним її результатом для всіх типів K^+ -каналів є гіперполяризація плазматичної мембрани та зменшення потенціалзалежного входу Ca^{2+} , що сприяє розслабленню м'яза. Таке різноманіття типів K^+ -каналів очевидно обумовлено мінливістю фізіологічних умов у клітині, широким спектром чинників, що впливають на її метаболізм та необхідністю швидко реагувати на миттєві зміни умов функціонування.

Структура K_{ATP} -каналів

K_{ATP} -канал є гетерооктамером, утвореним двома типами субодиниць – каналотворювальною (Kir 6.x.) та регуляторною (SUR, sulfonyl urea receptor), які об'єднуються в комплекс зі стехіометрією 4 : 4 (рис. 1) [13, 14, 16]. Каналотворювальні субодиниці представлені двома типами – Kir 6.1 (ГМ, серце) та Kir 6.2 (ГМ, скелетні м'язи, серце, мозок, підшлункова залоза). Вони мають високий ступінь гомології між собою, але різну провідність для K^+ [13, 21]. На регуляторних SUR-субодиницях містяться сайти зв'язування активаторів та блокаторів K_{ATP} -каналів. Ці субодиниці також представлені двома типами – SUR1, яка кодується геном *ABCC8* (підшлункова залоза, мозок) та SUR2, що є продуктом гену *ABCC9*. Між цими типами існує 68% гомології [16]. SUR2 має два сплайс-варіанти – SUR2A (серце, скелетні м'язи) та SUR2B (ГМ), які мають 97% гомології між собою, але різну чутливість до нуклеотидів, фармакологічних блокаторів та активаторів, що визначається різною амінокислотною послідовністю С-кінцевої ділянки [22]. Таким чином, K_{ATP} -канали ГМ, серцевого та скелетних м'язів характеризуються різними електрофізіологічними та фармакологічними властивостями, оскільки утворені комбінацією різних типів Kir 6.x та SUR [13, 14, 23].

Кожна Kir-субодиниця містить два трансмембранних спіральних сегменти M1 та M2 (рис. 1). Обидва сегменти кожної з чотирьох субодиниць утворюють іон-транспортувальну

канальну пору та відіграють ключову роль у регуляції ворітної функції каналу [4, 13]. На M2-сегментах знаходиться регіон, який містить консервативний мотив gly-tyr-gly, що визначає високу селективність каналу до K^+ [20, 24].

Визначальною особливістю K_{ATP} -каналів є їх оборотне блокування в присутності АТР [13]. Однак досі до кінця незрозуміло через яку субодиницю цей процес опосередковується – регуляторну чи каналоутворювальну [14, 16]. Більшість дослідників вважає, що інгібування АТР опосередковує саме Kir-субодиниця [13, 25, 26], оскільки на її N-кінці з цитоплазматичного боку пори знаходиться ділянка, яка забезпечує зв'язок між приєднанням АТР та блокуванням каналу [27]. На користь цієї гіпотези свідчать дані Tucker S.J. та ін. і Trapp S. та ін., які показали, що Kir-субодиниця, яка була позбавлена C-кінцевого домену внаслідок мутації, і тому нездатна утворювати комплекс із регуляторною субодиницею, проводила K^+ -струм, що блокувався АТР [28, 29]. На безпосередню взаємодію АТР із каналоутворювальною субодиницею в умовах блокування каналу вказано також у роботі [26]. Крім того, Trapp S. та ін. виявили, що амінокислотна заміна в положенні C-166 Kir-субодиниці знижує чутливість каналу до інгібування АТР. Це підтверджує участь каналоутворювальної субодиниці в реалізації блокуючої дії АТР [29]. З іншої роботи відомо, що мутація SUR2A, яка призводила до втрати

NBF 1 домену, також зменшувала чутливість каналу до блокуючого впливу АТР, що може вказувати на ймовірний зв'язок інгібування каналу АТР із регуляторною субодиницею [30]. На користь цього припущення свідчать також дані Pratt E. та ін., які показали, що SUR-субодиниця збільшує чутливість K_{ATP} -каналів до інгібування АТР [31]. У роботі de Wet H. та ін. встановлено, що заміна висококонсервативного амінокислотного залишку G-1401 на нуклеотидзв'язувальному домені SUR1 позбавляє канал чутливості до блокування АТР [32]. Причому та сама мутація веде до втрати чутливості каналу до активації комплексом Mg^{2+} -АТР [32]. Отже, в блокуючому ефекті АТР задіяна його взаємодія з нуклеотидзв'язувальним доменом і на регуляторній субодиниці також. Таким чином, досі вірогідно не встановлено сайт інгібуючої дії АТР, але з наведених робіт очевидно, що в реалізації блокуючого ефекту беруть участь і регуляторна і каналоутворювальна субодиниці. Дуже імовірно, що існують сайти інгібування АТР на обох типах субодиниць. Для блокуючого ефекту АТР непотрібний гідроліз, оскільки аналоги АТР, що не гідролізуються також блокують канал [27, 33]. АТР за взаємодії з K_{ATP} -каналом, зменшує ймовірність його відкриття (т. зв. open probability) і стабілізує його закритий стан [34].

Цікавим феноменом функціонування каналу є різноспрямована дія АТР, яка залежить від іонів Mg. Так, інгібування K_{ATP} -каналів

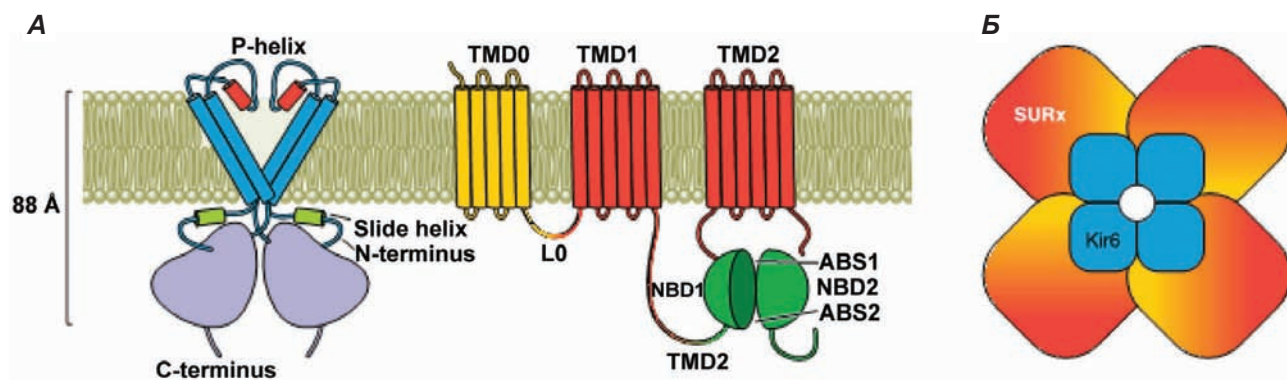


Рис. 1. Структура АТР-чутливого K^+ -каналів: А – каналоутворювальна Kir6 – (зліва) та регуляторна SUR – (справа) субодиниці. Синім зображено M1 та M2 трансмембранні спіральні сегменти, в середині яких знаходиться пороутворювальний регіон із селективним фільтром. Сірим зображено цитоплазматичний домен, на якому міститься сайт зв'язування АТР. До складу SUR-субодиниці входять три трансмембранні домени – TMD1, TMD2, TMD0. На перших двох знаходяться нуклеотидзв'язувальні сегменти, які утворюють Mg^{2+} -нуклеотидзв'язувальні сайти (зображено зеленим). TMD0 містить лінкер L0, який бере участь в асоціації обох типів субодиниць. Б – просторова організація субодиниць АТР-чутливого K^+ -каналів [27]

відбувається лише за відсутності Mg^{2+} , тоді як у присутності цих іонів АТР стимулює роботу каналу [13, 27]. Вірогідно встановлено, що стимулювальний ефект АТР опосередковується через регуляторну SUR-субодиницю [34]. SUR-субодиниці належать до широкої родини АВС-протеїнів (АТР-binding cassette), оскільки містять, як й інші члени цієї родини, два нуклетидзв'язувальні домени NBF1 та NBF2 із висококонсервативними Walker 1 та Walker 2 мотивами, локалізованими з цитоплазматичного боку каналу. На Walker-мотивах локалізований сайт зв'язування комплексу Mg^{2+} -АТР. Але регуляторні субодиниці K_{ATP} -каналу відрізняються від типових представників надродини АВС-протеїнів тим, що їхні трансмембранні домени (TMD 1 та 2) не виконують транспортувальної функції, як це зазвичай відбувається в інших АВС-транспортерів [30]. Ще однією відмінністю є те, що до структури SUR входить третій трансмембранний домен TMD0, якого немає в типових представників родини АВС-протеїнів (рис. 1) [35]. Цей домен бере безпосередню участь у взаємодії обох субодиниць [32, 36, 37].

Відомо, що АВС-транспортери, до яких належать також і SUR-субодиниці, виявляють АТР-гідролазну активність [36]. Також встановлено, що SUR містять висококонсервативний Walker-мотив, який відповідає за гідроліз АТР в інших АВС-транспортерів, що дозволяє припускати наявність гідролітичної активності у SUR-субодиниць [30, 36], хоча її вдалось безпосередньо визначити лише в декількох роботах [32, 37, 38]. Необхідність гідролізу АТР регуляторними субодиницями під час активації K_{ATP} -каналу комплексом Mg^{2+} -АТР досі залишається спірним питанням, оскільки показано, що комплекс Mg^{2+} -ADP здатен стимулювати активність каналу так само, як і Mg^{2+} -АТР. Було встановлено, що вже згадуваний вище висококонсервативний амінокислотний залишок G-1401 у нуклетидзв'язувальному домені SUR відповідає не тільки за блокування каналу АТР у відсутності іонів Mg, але і за активацію каналу Mg^{2+} -ADP. Цей амінокислотний залишок бере участь у спряженні зв'язування Mg^{2+} -ADP із відкриттям каналної пори на Kir-субодиниці. Крім того, його мутація призводить до втрати здатності каналу активуватись комплексом Mg^{2+} -ADP [32]. Тобто вищенаведені дані свідчать

на користь того, що активація каналу може здійснюватись продуктом гідролізу – Mg^{2+} -ADP, а сам гідроліз для активації непотрібний [13].

Роль асоціації Kir та SUR у функціонуванні каналу

Для функціонально активного K_{ATP} -каналу необхідні обидва типи субодиниць – регуляторна та каналоутворювальна [16]. Взаємодія між SUR-та Kir-субодиницями має важливе значення для регуляції активності каналу [30]. Inagaki N. та ін. [39] показали, що Kir 6.2 не проводить K^+ -струм за відсутності SUR. Хоча у вже згадуваній вище роботі Tucker S. та ін. [28] вдалось зареєструвати K^+ -струм через окрему Kir 6.2, але виявилось, що без SUR, Kir 6.2 має істотно зменшену ймовірність відкриття, ніж у комплексі із SUR, також була відсутня чутливість до фармакологічних активаторів та блокаторів. Але всі ці властивості відновлювались у комплексі з регуляторною субодиницею [28]. У цій самій роботі [28] було показано, що в присутності SUR-субодиниць полегшується доступ АТР до сайту зв'язування на Kir-субодиниці, внаслідок чого зростає чутливість каналоутворювальних субодиниць до інгібування АТР. Механізм регуляції транспортувальної активності Kir 6.x регуляторною субодиницею SUR до кінця незрозумілий, хоча припускається, що мають місце конформаційні перебудови SUR у разі приєднання/відокремлення АТР. Nosy E. та ін. показали, що лінкерний домен TMD0-L0, який безпосередньо бере участь в асоціації обох субодиниць, зазнає конформаційних змін в умовах приєднання АТР, які можуть певним чином сприяти інактивації каналу [40]. На провідну роль лінкерної послідовності L0 TMD0 домену в регулюванні ворітної функції Kir вказано також у роботах Masia R. та ін. і Mikhailov M. та ін., а також підтверджено існування тісного просторового зв'язку між TMD0 та Kir [37, 38].

Транспортування субодиниць K_{ATP} -каналів з ендоплазматичного ретикулума до плазматичної мембрани, крім того, залежить від взаємодії між його субодиницями [13, 30, 41]. Conti L. та ін. показали, що на субодиницях обох типів присутня однакова послідовність із трьох амінокислотних залишків, які відщеплюються тільки за умови асоціації всіх субодиниць у гетерооктамер в ендоплазматичному ретикулумі та забезпечують подальше транспортування цілого комплексу до

апарату Гольджі [42]. Ця послідовність виконує роль своєрідного механізму «контролю якості» формування структури $K_{\text{АТР}}$ -каналу, попереджаючи транспортування не до кінця зібраного комплексу субодиниць до плазматичної мембрани [22]. Молекулярно-біологічними методами показано, що гени, які кодуєть регуляторну та каналоутворювальну субодиниці, локалізовані в межах одного локусу, що полегшує регуляцію їхньої експресії [39, 43]. При зміні метаболічних умов це може мати важливе значення для функціонування клітини.

Фармакологічні активатори та блокатори $K_{\text{АТР}}$ -каналів

Оскільки активація $K_{\text{АТР}}$ -каналу спричинює гіперполяризацію плазматичної мембрани, то цілком зрозуміло, що застосування активаторів $K_{\text{АТР}}$ -каналів веде до розслаблення мускулатури та зменшення м'язового тонуусу, що показано на кардіоміоцитах та ГМ судин [44]. Тому на їх основі створені медичні препарати для лікування серцево-судинних хвороб [16]. Дія всіх відомих активаторів $K_{\text{АТР}}$ -каналів опосередковується їх взаємодією з SUR-субодиницею [21, 45]. Різні за хімічним походженням активатори взаємодіють із SUR у різних сайтах [46]. Взаємодія активатора із SUR призводить до лігандіндукованих конформаційних змін регуляторної субодиниці, що передаються через домени L0 та TMD0 до каналної пори Kіg 6.x [13, 47]. Дія активаторів залежить від присутності та концентрації нуклеотидів. Наприклад, діазоксид та нікорандил не активують $K_{\text{АТР}}$ -канали серця за відсутності ADP [48]. Hambrock A. та ін. [45] показали, що комплекс Mg^{2+} -ADP впливає на взаємодію активаторів із SUR-субодиницею, посилює їх зв'язування з SUR2A (переважає у кардіоміоцитах), але інгібує зв'язування із SUR2B (переважаючий тип у ГМ). Мутація нуклеотидзв'язувальних доменів регуляторних субодиниць унеможливує активацію каналів пінацидиллом [49], що може свідчити про участь нуклеотидів у взаємодії активаторів із каналом.

Зменшення чутливості каналів до блокування АТР у присутності активаторів $K_{\text{АТР}}$ -каналів, що було показано електрофізіологічними методами, дало можливість припустити, що механізм активації каналу полягає в конкуруванні з АТР за сайт зв'язування [16]. Але це припущення не підтвердилось у подальших дослідженнях,

оскільки виявилось, що в механізмі активації може бути задіяна гідролітична активність SUR-субодиниці. Так, Schwanstecher M. та ін. показали, що активатор $K_{\text{АТР}}$ -каналів судин P1075 не впливає за відсутності АТР або у разі заміни АТР на негідролізуємий його аналог [50]. Мутація нуклеотидзв'язувального домену SUR, а саме мотиву Walker A, який бере участь у гідролізі АТР, унеможливує взаємодію активатора з каналом [51], що зайвий раз підтверджує роль гідролізу АТР у механізмі дії активаторів.

Усі відомі блокатори $K_{\text{АТР}}$ -каналів є похідними сульфоніл сечовини [16]. Їх дія, як і дія активаторів, опосередковується взаємодією із регуляторною субодиницею [28, 46]. За даними Koster J. C. та ін. у високоафінній взаємодії SUR із сульфаниламідними похідними бере участь N-кінцева ділянка регуляторної субодиниці, оскільки мутація, яка призводила до її видалення, усувала чутливість каналу до блокування толбутамідом [52].

Регуляція активності $K_{\text{АТР}}$ -каналів

Добре відомою особливістю $K_{\text{АТР}}$ -каналів є блокування їхньої провідності АТР у мілімолярних концентраціях, що було неодноразово показано методом patch-clamp [15, 33, 53]. У класичній роботі Noma A. [15] АТР у концентрації вище 1 мМ інгібує $K_{\text{АТР}}$ -канали кардіоміоцитів. Враховуючи, що фізіологічні концентрації АТР у клітині складають одиниці мілімоль, робота каналу була би постійно заблокована, але цього не відбувається, оскільки його функціонування також регулюється багатьма іншими чинниками. Зокрема, добре доведено стимулювальну дію нуклеозиддифосфатів, яка виявляється в присутності іонів Mg, а також комплексу Mg^{2+} -АТР, що неодноразово продемонстровано на клітинах ГМ та кардіоміоцитах [54–57]. Тобто інгібування каналу АТР визначається не абсолютним значенням його концентрації в цитозолі, а співвідношенням концентрацій ADP, АТР, присутністю іонів Mg та іншими чинниками. Саме це співвідношення є важливим регулятором, який пов'язує активність каналу із клітинним метаболізмом.

Відомо, що регуляція активності каналу здійснюється не лише коливаннями концентрацій нуклеотидів та іонів Mg. Так, деякі цитозольні ензими, такі як креатинкіназа, лактатдегідрогеназа, аденілаткіназа можуть

тісно асоціювати з K_{ATP} -каналами та впливати на їх функціонування [58–60]. Активність K_{ATP} -каналів може модулюватись цитоскелетом. Yokoshiki H. та ін. було показано, що взаємодія актинових філаментів, локалізованих безпосередньо поблизу плазматичної мембрани кардіоміоцитів, з K_{ATP} -каналами може послаблювати активність останніх. Цитохалазин, який, як відомо, порушує структуру мікрофіламентів, виявляв активуючий вплив на канал [61]. У роботі Terzic A. та ін. було продемонстровано, що руйнування зв'язку між цитоскелетом та K_{ATP} -каналом послаблює взаємодію між його регуляторними та каналотворювальними субодиницями [62]. Таким чином, актинові філаменти регулюють активність каналу та певним чином беруть участь у взаємодії між обома типами його субодиниць. Зв'язок K_{ATP} -каналів із скоротливим апаратом м'язових клітин може вказувати на важливу роль цих структур у регуляції скоротливої активності м'язів.

Іншим фактором, що регулює функціонування каналу є фосфорилування протеїнкіназами (PK). Регулювання активності K_{ATP} -каналів PK має особливе значення у ГМ судин [63, 64]. PKA, в активації якої беруть участь вазодилататори (аденозин, β -агоністи), активує канал, що призводить до гіперполяризації клітин ГМ та розслаблення судин [22, 65]. Субодиниці K_{ATP} -каналів клітин ГМ містять два консенсусних сайти фосфорилування PKA, які у відповідь на фосфорилування збільшують імовірність відкриття каналу [63]. Стосовно впливу PKC на K_{ATP} -канали клітин судин та серця дані суперечливі, що можна пояснити різним амінокислотним складом субодиниць каналів у цих тканинах та різним способом їх регуляції. Так, було показано, що PKC, в активації якої беруть участь вазоконстриктори (ангіотензин, ендотелін), блокує роботу каналу в клітинах ГМ судин і спричинює деполяризацію та скорочення м'язів судин [22, 65], але в кардіоміоцитах PKC, навпаки, активує K_{ATP} -канал навіть у присутності мілімолярних концентрацій АТР [66].

Функціонування K_{ATP} -каналів регулюється рН. Напрямок цієї регуляції ймовірно визначається типом субодиниць, що входять до складу каналу. Так, Manning Fox J. та ін. показали безпосередній активуючий ефект лужних значень рН на K_{ATP} -канали β -клітин підшлункової

залози [67]. Інші автори показали збільшення значення константи спорідненості каналу серця та судин до АТР за кислого рН, тобто зменшення чутливості каналу до блокуючого ефекту АТР [68–70]. Активність K_{ATP} -каналів кардіоміоцитів, блокованого АТР, відновлювалась за зниження рН до 6,0. Тобто у разі закислення цитозолу відбувається зменшення спорідненості K_{ATP} -каналів до АТР, що призводило до збільшення ймовірності його відкриття [71]. Ці дані добре узгоджуються зі встановленим фактом, що K_{ATP} -канали серця і судин активуються в умовах ішемії [14], яка, як відомо, супроводжується закисленням внутрішньоклітинного середовища. Такий вплив рН за низьких значень може пояснюватись протонуванням тих амінокислотних залишків, що безпосередньо беруть участь у взаємодії АТР із регуляторною субодиницею та зменшують її чутливість до блокування.

Регулювання активності каналу може здійснюватись мембранними фосфоліпідами, зокрема фосфатидилінозитол-4,5-бісфосфатом (PIP_2), який потужно стимулює активність K_{ATP} -каналів внаслідок взаємодії з каналотворювальними субодиницями [34, 71, 72]. PIP_2 зменшує чутливість K_{ATP} -каналів до інгібування АТР, конкурує з АТР за сайт зв'язування на K_{ATP} -субодиниці, а також збільшує чутливість K_{ATP} -каналів до активаторів [34]. Активуюча дія PIP_2 усувається фосфоліпазою C, яка, як відомо, гідролізує його [73]. Активуючий ефект PIP_2 виявляється не тільки на K_{ATP} -каналах, але й на інших K^+ -каналах K_{ATP} -типу [34].

CoA-похідні довголанцюгових жирних кислот, так само як і PIP_2 , також мають здатність модулювати активність K_{ATP} -каналів. При цьому їх взаємодія із регуляторною субодиницею відбувається у тому самому сайті, з яким взаємодіє PIP_2 , а ступінь активуючого впливу на канал залежить від довжини їхнього ланцюга. Так само, як і PIP_2 , жирні кислоти зменшують чутливість каналу до інгібування АТР [74]. Модулювання фосфоліпідами та похідними жирних кислот чутливості K_{ATP} -каналів до інгібування АТР має важливе значення у регуляції його активності особливо за патофізіологічних умов, які супроводжуються зміною фосфоліпідного складу мембрани.

Активність каналу може регулюватись модифікаторами сульфгідрильних груп. Так, групою Ashcroft F. M. було показано, що блоку-

вання цистеїнових залишків у молекулі SUR1 сульфгідрильним реагентом призводило до повного блокування активності K_{ATP} -каналу [29]. Тобто, ймовірно, що в сайтах, які відповідають за регулювання активності каналу, знаходяться SH-групи, окислений стан яких необхідний для функціонування каналу.

Таким чином, активність каналу регулюється не абсолютними концентраціями АТР, а співвідношенням концентрацій АТР, АДФ, наявності інших нуклеозиддифосфатів, жирними кислотами, протеїніназами, фізіологічними чинниками, такими як зміна рН, метаболічне інгібування.

Фізіологічна роль K_{ATP} -каналів у клітинах м'язів

Оскільки K_{ATP} -канал блокується АТР у мілімолярних концентраціях, то існує таке припущення, що в умовах нормоксії, коли співвідношення АТР/АДФ є високим, він не функціонує [75]. Активація відбувається у разі зменшення доступу кисню в клітини, коли вміст АТР у цитозолі значно зменшується. Ще в ранніх дослідженнях на кардіоміоцитах було встановлено, що активація K_{ATP} -каналів виявляє протекторну дію за ішемії [76]. Також було показано, що регуляторна субодинаця виконує роль метаболічного сенсора. Її нуклеотидзв'язувальні домени відповідають за активацію каналу за гіпоксії [14]. Механізм протекторної дії K_{ATP} -каналів пов'язують зі скороченням потенціалу дії, внаслідок чого попереджується накопичення високих концентрацій Ca^{2+} в клітині через потенціалзалежні Ca^{2+} -канали [13]. Завдяки цьому блокується скорочення м'яза та зменшуються витрати клітинного пулу АТР [30]. Ці дані отримали підтвердження в роботах останніх років [77, 78]. Зокрема, доведено участь K_{ATP} -каналів серця та судин в ішемічному прекодиціонуванні (ІП) [27, 77]. Явище ІП полягає в серії коротких періодів ішемії перед застосуванням тривалого періоду ішемії та наступної реперфузії. Внаслідок ІП відбуваються зміни в метаболізмі клітини, що дозволяють до певних меж зберегти функціонування міокарда та зменшити некротичне пошкодження тканини [79]. Доказом участі K_{ATP} -каналів в ІП є той факт, що його позитивні наслідки усуваються в присутності блокаторів цих каналів (глібенкламід та 5-гідроксидеканоевої кислоти) [78]. Іншим до-

казом цього припущення є дані Gumina R. та ін., які свідчать, що в мишей з нокаутованим геном, який кодує субодинацю Kir 6.2, явище ІП було відсутнє [80]. Таким чином, ці факти підтверджують, що K_{ATP} -канал активується за ішемії і бере участь у захисті клітин від пошкодження у разі патологічних умов, але досі до кінця є незрозумілим механізм реалізації його захисної дії [78–80]. Застосування активаторів K_{ATP} -каналів в умовах ішемії–реперфузії виявляє такий самий протекторний ефект, як ІП [27].

У ГМ судин K_{ATP} -канал бере участь у регуляції судинного тону. Його активація веде до релаксації м'язів судин [81]. Але, на відміну від кардіоміоцитів, в яких цей канал активується у відповідь на зменшення концентрації АТР, у ГМ судин спонтанна активація K_{ATP} -каналів не відбувається за відсутності АТР, що, можливо, частково обумовлено більш низькою чутливістю Kir-субодинаці до блокування АТР [14]. Його активність залежить від присутності вазодилаторів (простагландин, аденозин) та вазоконстрикторів (ендотелін, вазопресин, гістамін) [82]. Канал ГМ судин так само, як і в кардіоміоцитах, активується у відповідь на гіпоксію та інгібування метаболізму і усуває наслідки дії несприятливих для клітини умов [14, 83]. Зокрема, роботи [84, 85] підтверджують роль K_{ATP} -каналів у підтриманні судинного тону в умовах гіпоксії.

Дослідження останнього десятиріччя дозволяють припустити, що K_{ATP} -канал може забезпечувати нормальне функціонування клітин серця та судин не тільки за патологічних, але і за фізіологічних умов [81]. Зокрема, було показано, що в мишей з нокаутованими у кардіоміоцитах генами SUR2A [85] або Kir 6.1 [86] розвивається несумісне з життям порушення серцевої діяльності, а за нокауту гену, що кодує SUR2B субодинацю, в мишей спостерігається гіпертензія та коронарний вазоспазм [87]. Крім того, Quayle J. M. та ін. було показано, що блокатори каналу за фізіологічних умов *in vivo* зумовлювали скорочення ГМ судин [88], що може бути додатковим доказом ролі K_{ATP} -каналів у регуляції базального тону судин.

Крім судин, K_{ATP} -канали також було ідентифіковано в інших ГМ, таких як кишечник миші, шлунок морської свинки, уретра свині, матка людини та щура [89, 90]. На відміну від ГМ судин, де K_{ATP} -канал утворений SUR2B та Kir 6.1

та не має чутливості до АТР, в інших ГМ тканинах субодинаця SUR2B може бути асоційована як з Kir 6.2, так і з Kir 6.1, а активність каналу може регулюватись внутрішньоклітинним АТР залежно від типу Kir субодинаці, що входить до його складу [14, 30]. Припускається, що як і в ГМ судин, $K_{\text{АТР}}$ -канал в інших ГМ теж регулює їх збудливість [91]. Зокрема, показано збільшення експресії субодинаць $K_{\text{АТР}}$ -каналу в міоцитах матки під час вагітності [82], що дає підстави припустити, що цей канал регулює скоротливість міометрія.

Існування $K_{\text{АТР}}$ -каналів у скелетних м'язах підтверджується роботами [17, 92]. Встановлена їх участь у поглинанні глюкози, а також у зменшенні втомлюваності м'язової тканини [23]. Досі спірним є питання стосовно функціонування цих каналів у скелетному м'язі в стані спокою, оскільки відомо, що регуляторна субодинаця SUR2A є високочутливою до інгібування АТР [93]. Але є дані, які можуть свідчити про активний стан $K_{\text{АТР}}$ -каналів у незбуджених клітинах скелетних м'язів. Зокрема, Jung та ін. показали, що глібенкламід блокував вихід K^+ із клітини в стані спокою [17].

Здатність $K_{\text{АТР}}$ -каналів цього типу тканин відкриватись при низьких концентраціях АТР дала ґрунт для гіпотези про їх протекторну роль у разі виснаження м'яза, враховуючи що під час високого фізичного навантаження різко зростає споживання АТР, а його запас у клітині відповідно скорочується. Підтвердженням цієї гіпотези є той факт, що в мишей з нокаутованим Kir 6.2 геном м'язове виснаження розвивалось набагато швидше, ніж у мишей дикого типу. Активація $K_{\text{АТР}}$ -каналів, яка спричинює гіперполяризацію, зменшує збудливість тканини і витрати АТР [93]. Цікаво, що $K_{\text{АТР}}$ -канали в скелетних м'язах активуються у разі закислення цитозолу, що спостерігається за ішемії, та лактатом, який, як відомо, накопичується внаслідок інтенсивної роботи м'яза [92], що зайвий раз підтверджує їх протекторну роль у поперечно-смугастих м'язах в умовах виснаження.

Таким чином, функціонування $K_{\text{АТР}}$ -каналів у міоцитах має важливе значення для забезпечення нормального функціонування клітин та тканини в цілому. Не дивлячись на те, що регулювання їхньої активності залежить від типу м'язової тканини, їх активація призводить до зменшення збудливості міоцита та збереження

енергетичного балансу в усіх без виключення типах м'язів, що має важливе значення як за нормальних, так і за патологічних умов. Не дивлячись на великий масив робіт із цієї теми, залишаються дискусійні питання щодо механізмів регуляції $K_{\text{АТР}}$ -каналів. Хоча явище блокування K^+ провідності в присутності АТР встановлено декілька десятиліть тому, досі існують лише припущення, але вірогідно не відомо через яку субодинацю воно здійснюється та як регулюється. З огляду на це, продовження досліджень з цієї тематики є перспективним.

Спроби молекулярної ідентифікації субодинаць $K_{\text{АТР}}$ -каналу та тестування АТР-чутливої K^+ -провідності у внутрішній мембрані мітохондрій

На відміну від $K_{\text{АТР}}$ -каналів плазматичної мембрани, що широко досліджуються на молекулярному рівні, та субодинаці яких клоновано [4, 10, 21], немає узгодженої думки стосовно структури АТР-чутливого переносника іонів K в мітохондріях (міто $K_{\text{АТР}}$) [94–96]. Але подібний до $K_{\text{АТР}}$ -каналів плазматичної мембрани фармакологічний профіль міто $K_{\text{АТР}}$ спонукає зробити припущення про подібну до $K_{\text{АТР}}$ -каналів гетеромерну структуру міто $K_{\text{АТР}}$ [96, 97]. Це припущення деякою мірою підтверджується роботами, в яких за допомогою методу вестерн-блот аналізу з використанням антитіл проти SUR- та Kir 6.x-субодинаць, а також зв'язування мічених селективних блокаторів $K_{\text{АТР}}$ -каналів, показано наявність на внутрішній мітохондріальній мембрані структур, що мають властивості регуляторної та каналотворювальної субодинаць $K_{\text{АТР}}$ -каналів [98–100]. Зокрема, групою Paucsek P. та ін. було виділено із внутрішньої мембрани мітохондрій серця бика протеїн з Мм 54 кДа, який у разі реконструювання в протеоліпосому проводив K^+ -струм, виявляв високу селективність до K^+ і блокувався АТР, з чого було зроблено припущення про його можливу ідентифікацію як каналотворювальної субодинаці міто $K_{\text{АТР}}$ [98]. Цією самою групою було одержано з мітохондрій мозку щура очищені протеїни з Мм 55 та 63 кДа. Протеїн (63 кДа) мігився флуоресцентним аналогом блокатора $K_{\text{АТР}}$ -каналів глібенкламід (BODIPY-FL-gliburide), що дозволяло його ідентифікувати як SUR-субодинацю [99]. Під час реконструювання в протеоліпосому він утворював комплекс

з іншим протеїном (55 кДа), внаслідок чого формувався функціональний мітоK_{АТР}-канал. Протеїн з Мм 55 кДа, за припущенням авторів, був мітоКіг-субодиницею. Реконструйований канал мав властивості АТР-чутливих K⁺-каналів: проводив K⁺-струм, який зворотно блокувався АТР із K_s 43 мкМ та необоротно глібенкламідом (K_{1/2} 56 нМ). Також цей канал блокувався 5-гідроксидеканоєвою кислотою (5-HD), блокатором мітоK_{АТР} [99]. Методом вестерн-блоту з використанням антитіл до SUR2-субодиниці в мітохондріях серця мишей було ідентифіковано протеїн з Мм 55 кДа. Цей протеїн містив коротку амінокислотну послідовність, яка визначала його локалізацію саме в мітохондріях (так звану mitochondrial targeting sequence), був здатен утворювати комплекс з Кіг 6.2 субодиницею з формуванням функціонального мітоK_{АТР} [100]. У внутрішній мембрані мітохондрій печінки щура також було ідентифіковано протеїн, що селективно (K_d = 360 нМ) зв'язувався з міченим [НЗ] глібенкламідом – відомим блокатором SUR-субодиниці K_{АТР}-каналів [101]. На підставі одержаних даних зроблено висновок про приналежність ідентифікованого протеїну до регуляторних SUR-субодиниць мітоK_{АТР} каналу [101]. Таким чином, у наведених вище роботах показано наявність на внутрішній мембрані мітохондрій структур, які можуть бути регуляторною та каналоутворювальною субодиницями мітоK_{АТР} каналів та можуть у комплексі утворювати функціональний АТР-чутливий K⁺-канал [96–101]. Але, на думку деяких дослідників, висновки про структуру мітоK_{АТР} які базуються на використанні антитіл проти субодиниць Кіг та SUR, є передчасними [94, 95]. Так, Foster D. B. та ін. показали за допомогою методу мас-спектрометрії, що протеїни з Мм 51 та 48 кДа, які мітилися антитілами проти Кіг6.1, виявилися двома мітохондріальними ензимами – NADPH-залежною ізоцитрат дегідрогеназою та NADH-дегідрогеназою [95]. Але, з іншого боку, на нашу думку, не виключена можливість тісної асоціації між субодиницями каналу та цими ензимами, а також можлива їх участь у формуванні АТР-чутливої K⁺-провідності мітохондрій, оскільки є дані, які свідчать, що відновлені кофактори цих ензимів – NADPH та NADH, регулюють активність мітоK_{АТР} в ізольованих мітохондріях [102].

Іншим можливим недоліком результатів, одержаних методом вестерн-блоту, є

ймовірність контамінації мітохондріальної фракції протеїнами плазматичної мембрани, що ставить під сумнів мітохондріальне походження ідентифікованих субодиниць [94]. Але різні фармакологічні властивості, зокрема, різні значення констант активації діазоксидом реконструйованих K_{АТР}-каналів плазматичної мембрани та мітоK_{АТР} можна вважати додатковим підтвердженням ідентичності останніх. Так, у роботі Garlid et al., в якій порівнювались властивості реконструйованих у протеоліпосому K_{АТР}-каналів плазматичної мембрани та мітоK_{АТР} кардіоміоцитів, показано, що перший має більш ніж на три порядки нижчу чутливість до діазоксиду, ніж мітоK_{АТР}. Значення K_{1/2} у першому випадку становило 855 мкМ, тоді як для мітоK_{АТР} – 0,37 мкМ [96].

Питання щодо структурної організації мітоK_{АТР} залишається дискусійним. Зокрема, у роботі Ardehali H. та ін. показано, що комплекс із п'яти мітохондріальних ензимів – сукцинатдегідрогенази, АТР синтетази, транслокази аденілових нуклеотидів, мітохондріального АВС-протеїну (mABC1) та переносника P_i, – вбудованих у протеоліпосому та ліпідний бішар, виявляв властивості мітоK_{АТР} – проводив K⁺-струм, що блокувався 5-HD, глібенкламідом і АТР та активувався діазоксидом [103]. У статті нез'ясовано механізм взаємодії цих протеїнів та неідентифіковано каналоутворювальну субодиницю. Також автори не виключають можливості коїмунопреципітації інших мітохондріальних протеїнів, що можуть функціонувати в цьому комплексі, серед яких може бути мітоКіг-субодиниця. У вище вказаній роботі також показано, що транспорт K⁺ через досліджуваний мультиензимний комплекс активується інгібіторами сукцинатдегідрогенази (СДГ), що може свідчити про можливу регуляторну роль цього ензиму у функціонуванні мітоK_{АТР} [103].

Інтерес до можливої взаємодії СДГ та мітоK_{АТР} виник після з'ясування того факту, що деякі активатори останнього, зокрема діазоксид, у високих концентраціях інгібують СДГ [104, 105]. Цей факт поставив під сумнів селективність дії діазоксиду на мітоK_{АТР}. Але у подальших дослідженнях було з'ясовано, що його концентрації, необхідні для досягнення значного інгібуючого ефекту СДГ, є на порядок вищими за ті, що необхідні для активації мітоK_{АТР}. Так, за даними Kowaltowski A. та

ін. діазоксид у концентрації 50–1000 мкМ пригнічував стимульоване сукцинатом дихання мітохондрій серця шурів. Цей ефект виявлявся під час заміни іонів K на Li⁺ [104], з чого можна зробити висновок, що мішенню дії діазоксиду була саме активність СДГ. Але значення константи активації діазоксидом мітоK_{АТР} визначене на інтактних мітохондріях серця шурів (2 мкМ), лежить за межами концентрацій, за яких виявлялась інгібуюча дія діазоксиду [96], тому можна припустити, що у концентраціях, необхідних для активації мітоK_{АТР} діазоксид не може виявляти помітного інгібування СДГ. Далі, у роботі Wojtovich A. та ін. з використанням високоселективного інгібітору СДГ атпеніну А5, безпосередньо показано взаємозв'язок між активністю СДГ та функціонуванням мітоK_{АТР} [105]. Інгібування СДГ лише на 0,4% від загальної активності, що досить мало позначається на роботі ензиму, виявляло значний активуючий ефект на мітоK_{АТР} [105]. Більше того, в іншій роботі цієї групи було показано, що активуючий ефект інгібітору СДГ виявлявся навіть за відсутності сукцинату, тобто в умовах нефункціонуючого комплексу II [106]. Тобто, ймовірно, що конформаційні перебудови в молекулі СДГ за взаємодії з інгібітором можуть регулювати активність мітоK_{АТР}. Інші інгібітори СДГ, такі як 3-нітропропіонова кислота, малонат, нітроксил, нітролінолеат, також активують мітоK_{АТР} [102]. Ці дані дозволяють зробити припущення, що СДГ може бути структурним або регуляторним компонентом мітоK_{АТР}. Також, цілком імовірно, що діазоксид, який вважається загальноприйнятим активатором мітоK_{АТР} може активувати канал у мітохондріях опосередковано, шляхом пригнічення активності СДГ. Але у цьому разі не зрозуміло, яким чином діазоксид активує реконструйований у протеоліпосомі комплекс зі SUR- та Kir-субодиниць [103]. Також це припущення суперечить вірогідно встановленому факту, що активація діазоксидом K_{АТР}-каналів плазматичної мембрани опосередковується саме регуляторною SUR-субодиницею [45]. Про суперечливість даних стосовно структури мітоK_{АТР} свідчить також те, що в деяких дослідженнях не вдалось ідентифікувати мітоSUR, не дивлячись на успішні спроби ідентифікації мітоKir-субодиниці [107]. Це може бути результатом недоліку використаних методів або може свідчити про те, що регуля-

торну роль мітоK_{АТР} виконує інша структура. Wojtovich A. P., припускає, що у мітоK_{АТР} регуляторна SUR-субодиниця відсутня, а її функцію виконує СДГ [106]. Це припущення певною мірою узгоджується з даними Adebisi A. та ін., які показали, що в мишей з нокаутованим геном, що кодує SUR-субодиницю в міоцитах судин, відбувається діазоксидзалежна вазодилатація. Ефект діазоксиду послаблюється в присутності вищезгаданого інгібітору СДГ атпеніну, що, на думку авторів, доводить, що мішенню дії діазоксиду є саме СДГ [108]. Загальне суперечливе уявлення про структурно-функціональні особливості мітоK_{АТР} ще більше ускладнюється тим фактом, що, деякі активатори мітоK_{АТР} (наприклад, пінациділ, нікорандил та кромакалім) при цьому не інгібують СДГ [109].

Нові дані стосовно структури мітоK_{АТР} представлені в роботі Foster D. та ін. [110]. Автори показали, що Kir 1.1 (інша назва ROMK, продукт гену *KCNJ1*), може бути потенційною каналотворювальною субодиницею мітоK_{АТР} серця [110]. Протеїн Kir 1.1 містить коротку амінокислотну послідовність, яка визначає його локалізацію саме в мітохондріях, та колокалізується з АТР-синтетазою. Доказом приналежності Kir 1.1 до АТР-чутливої K⁺-провідності в мітохондріях був той факт, що високоафінний блокатор ROMK тертіапін блокував мітоK_{АТР} активність у ізолюваних мітохондріях та пермеабілізованих міоцитах. Суперекспресія ROMK у клітинах лінії H9C2 забезпечувала їх захист від індукованого терт-бутил гідропероксидом оксидативного стресу [110].

АТР-чутливе транспортування K⁺ також тестується методом patch-clamp на мітопластах [111, 112]. Зокрема варто згадати класичну роботу Inoue, в якій на мітопластах печінки шурів вперше було показано наявність чутливого до АТР переносника іонів K [111]. Транспортування K⁺ через цей канал блокується 4-амінопіридином, глібенкламідом та зворотно блокується АТР у мілімолярних концентраціях. Слід також сказати, що для дослідження активності мітоK_{АТР} широко використовується метод реєстрації світлорозсіювання на фракції ізолюваних мітохондрій [97, 113–115]. Доведено, що вхід іонів K через мітоK_{АТР} призводить до збільшення об'єму мітохондрії внаслідок спряженого з накопиченням іонів осмотичного входу води у матрикс мітохондрій [113, 114].

Збільшення об'єму матриксу відображується в зменшенні світлорозсіювання суспензії мітохондрій, що вимірюється спектрофотометрично на довжині хвилі 520 нм [113]. Даний метод вважається адекватним для дослідження функціонування мітоK_{АТР} [113–116]. Цим методом показано, що набухання мітохондрій блокується АТР. Зокрема наші дані, одержані на суспензії мітохондрій міоцитів матки, вказують на те, що АТР блокує набухання мітохондрій лише в середовищі, яке містить іони К (рис. 2) [117]. Ці дані абсолютно узгоджуються з результатами вимірювання гідродинамічного діаметра мітохондрій міометрія методом фотонкореляційної спектроскопії (рис. 3) [118]. Блокування АТР знімається активаторами K_{АТР} з K_{1/2} порядку 1–2 мкМ залежно від типу тканини, та не виявляється у разі заміни K⁺ на інші одновалентні іони [113, 116, 118].

Також, досить достовірним методом дослідження АТР-чутливого транспортування K⁺ у мітохондріях можна вважати флуориметричний метод із використанням K⁺-селективного флуоресцентного зонда RBFI на фракції ізольованих мітохондрій або ліпосомах із реконструйованим мітоK_{АТР}. Цим методом було показано блокування за допомогою АТР транспортування іонів К, яке знімалось активаторами мітоK_{АТР} [113, 115].

Таким чином, не дивлячись на велику кількість робіт, в яких досліджено АТР-чутливий транспорт K⁺ в мітохондріях [111–118], залишається неясною молекулярна ідентифікація його структурних компонентів.

Роль АТР-чутливої K⁺-провідності у функціонуванні мітохондрій

АТР-чутливий транспорт іонів К в мітохондріях є компонентом мітохондріального K⁺-циклу [113, 116]. Транспортування K⁺ виконує дві важливі функції у фізіології мітохондрій: регулювання утворення активних форм кисню (АФК) та регулювання об'єму матриксу [113]. Результати досліджень багатьох авторів свідчать, що мітоK_{АТР} бере участь в обох процесах [113–121]. Так, показано, що активація мітоK_{АТР} в умовах нормоксії призводить до помірного збільшення утворення АФК, які, як відомо, є клітинними месенджерами, що регулюють безліч важливих для клітини процесів [114]. З іншого боку, в умовах оксидативного

стресу, активація мітохондріального каналу зменшує значне утворення АФК, яке неминуче призвело б до загибелі клітини [114]. Узагальнену схему реалізації протекторної дії мітоK_{АТР} в умовах суперпродукції АФК представлено на рис. 4. МітоK_{АТР} активується АФК у разі оксидативного стресу та виявляє цитопротекторну дію, попереджаючи індукцію апоптозу [114, 119, 120]. Активацію каналу АФК було показано в роботі [119]. Автори продемонстрували, що цитопротекторну дію низьких концентрацій H₂O₂ можна зняти блокатором мітоK_{АТР} 5-гідроксидеканоатом. Також є дані, що в активації мітоK_{АТР} за оксидативного стресу задіяна РКС, яка посилює продукцію АФК [114, 119]. Безпосередню взаємодію мітоK_{АТР} та РКС показав Jaburek M. та ін. [121]. Автори доводять, що РКС та мітоK_{АТР} утворюють разом сигнальний модуль у внутрішній мітохондріальній мембрані. Під час реконструювання РКС та мітоK_{АТР} в протеоліпосому виявлено активацію останнього селективними агоністами РКС [121]. Взаємодія РКС та мітоK_{АТР} може вказувати на можливість регуляції активності мітоK_{АТР} фосфорилуванням/дефосфорилуванням, оскільки відомо, що РКС регулює функціонування багатьох протеїнів саме таким чином. Крім того, подібний спосіб регуляції показаний для K_{АТР}-каналів плазматичної мембрани [63, 64].

Регулювання об'єму матриксу також є надзвичайно важливим для мітохондрії. Під час інтенсивної роботи дихального ланцюга мітохондрія зменшується в об'ємі, що призводить до пригнічення мітохондріального дихання, а також до збільшення об'єму міжмембранного простору, яке негативно позначається на функціонуванні транспортерів, локалізованих у внутрішній мембрані [113]. У регуляції об'єму мітохондрії мітоK_{АТР} бере безпосередню участь, попереджаючи надмірне скорочення матриксу [97, 114, 115]. Вхід іонів К через мітоK_{АТР} та спряжене з ним накопичення P_i, призводять до осмотичного входу води в матрикс мітохондрій. Внаслідок збільшення об'єму матриксу активується K⁺/H⁺ антипортер [116], який викидає надлишок K⁺ в цитозоль, встановлює новий рівноважний об'єм матриксу та попереджає пошкодження зовнішньої мітохондріальної мембрани через надмірне розтягнення. Помірне набухання мітохондрій у разі

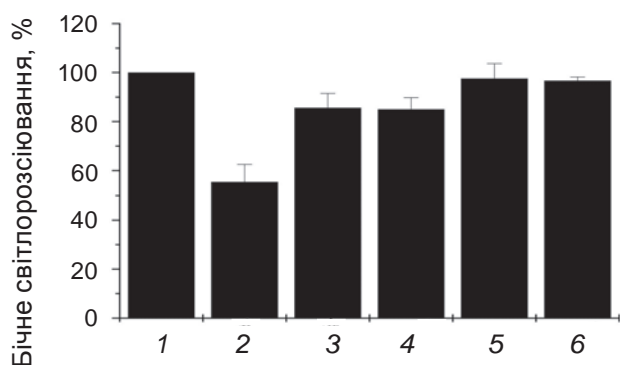


Рис. 2. Катіонна специфічність блокуючого ефекту АТР (200 мкМ) на набухання мітохондрій міометрія ($M \pm m$, $n = 5$): 1 – KCl; 2 – KCl + АТР; 3 – холін хлорид; 4 – холін хлорид + АТР; 5 – NaCl; 6 – NaCl + АТР. За 100% прийнято інтенсивність світлорозсіювання у середовищі, яке містило KCl (вираховували як різницю між значенням світлорозсіювання через 1 с після внесення мітохондрій та платовим значенням). Склад середовища інкубації (мМ): KCl, NaCl або холін хлорид – 125, HEPES – 10 (pH 7,2, 37 °C), сукцинат – 5, MgCl₂ – 1, Na₂HPO₄ – 5, ротенон – 0,05; олігоміцин – 0,001 [117]

активації мітоK_{АТР} призводить до відновлення роботи електрон-транспортного ланцюга, внаслідок чого зростає продукція АТР [112]. Таким чином, одночасне функціонування K⁺/H⁺ антипортера та мітоK_{АТР} які разом утворюють мітохондріальний K⁺-цикл, призводить до встановлення нового рівноважного об'єму матриксу без порушення цілісності зовнішньої мембрани (рис. 5) [113, 116].

Функціонування мітоK_{АТР} має особливе значення за гіпоксії, коли робота дихального ланцюга пригнічується і мітохондрія витрачає пул клітинного АТР для компенсації зменшеного потенціалу мембрани. За цих умов активація мітоK_{АТР} дозволяє зберегти АТР, зменшуючи його гідроліз [115]. Показано, що в умовах активації мітоK_{АТР} за гіпоксії відновлюється швидкість споживання кисню мітохондріями та відповідно продукція АТР [122].

Помірна деполаризація внутрішньої мембрани при вході K⁺ через мітоK_{АТР}, що було показано в роботах [118, 123], зменшує вхід іонів Ca і попереджає індукцію мітохондріальної пори перехідної проникності, яка відбувалась би за високих концентрацій Ca²⁺ в мітохондріальному матриксі в стресових умовах [113].

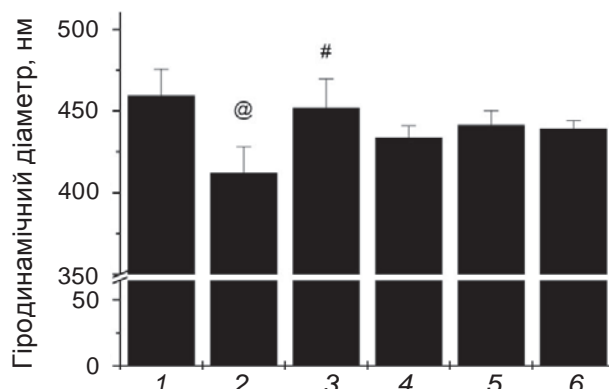


Рис. 3. Значення гіродинамічного діаметра мітохондрій міометрія, виміряне із використанням методу фотон-кореляційної спектроскопії ($M \pm m$, $n = 5$) [118]: 1 – стандартне середовище інкубації, яке містило 125 мМ KCl; 2 – як 1, але з додаванням 200 мкМ АТР; 3 – як 1, але з додаванням 200 мкМ АТР та 50 мкМ діазоксиду; 4 – стандартне середовище з додаванням 200 мкМ АТР, 50 мкМ діазоксиду та 20 мкМ глібенкламід; 5 – середовище інкубації, яке містило 125 мМ NaCl замість KCl; 6 – як 5, але з додаванням 200 мкМ АТР. @Відмінності вірогідні ($P < 0,05$) відносно колонки 1; #відмінності вірогідні ($P < 0,05$) відносно колонки 2. Склад середовища інкубації (мМ): KCl або NaCl – 125, HEPES – 10 (pH 7,2, 37 °C), сукцинат – 5, MgCl₂ – 1, Na₂HPO₄ – 5, ротенон – 0,05, олігоміцин – 0,001

Таким чином, мітоK_{АТР} регулює життєдіяльність мітохондрій у разі нормоксії та має вирішальне значення для виживання цих органел та клітини в цілому під час стресу [97, 114, 119, 120]. Подальші дослідження структури та функції мітоK_{АТР} є важливими, тому що не дивлячись на доведену роль мітохондріальної АТР-чутливої K⁺-провідності в усуненні наслідків ішемічного ураження клітини та в попередженні індукції апоптозу, невстановленою залишається, по-перше, молекулярна ідентифікація субодиниць мітоK_{АТР}, дані стосовно якої досить суперечливі, по-друге, регуляція його функціонування та механізми реалізації цитопротекторної дії в умовах оксидативного стресу. Встановлення структурних компонентів мітоK_{АТР} має прояснити механізми регуляції його активності та покращити розуміння взаємодії між багатьма ланками складного ланцюга регуляції клітинних процесів.

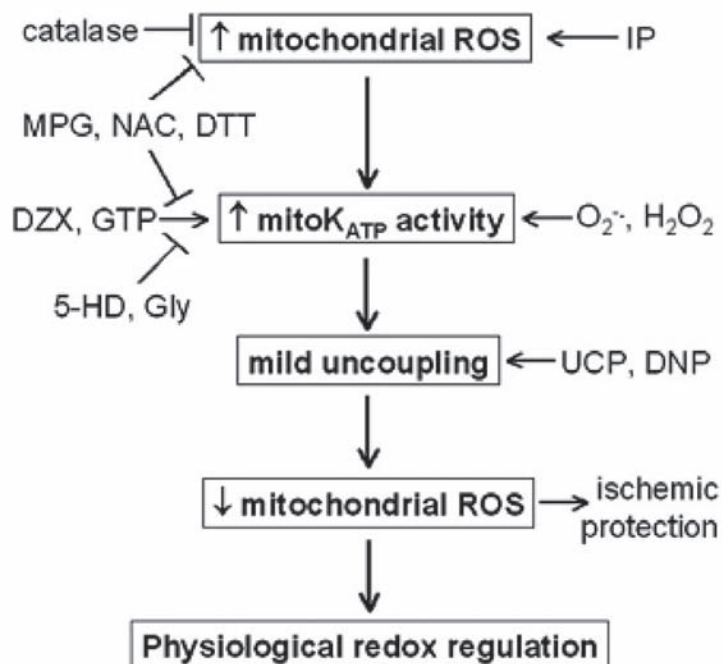


Рис. 4. Регуляція міто K_{ATP} продукції АФК в умовах оксидативного стресу [114]. Скорочення: MPG – меркаптопропіоніл гліцин; NAC – N-ацетилцистеїн; DTT – дітіотреїтол; DZX – діазоксид; 5-HD – 5-гідроксидеканоєва кислота; Gly – глібенкламід; UCP – роз'єднувальний протеїн; DNP – динітрофенол

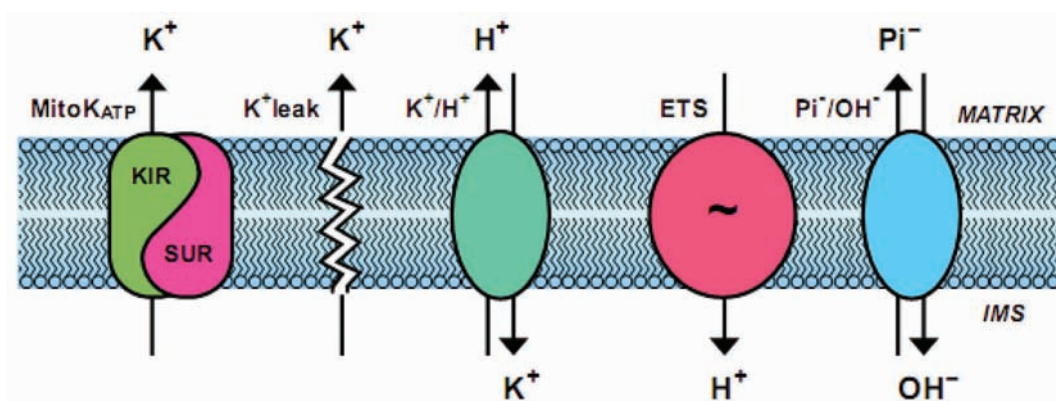


Рис. 5. Загальна схема мітохондріального K^+ -циклу [113]

Отже, цілком очевидно, що як K_{ATP} -канали плазматичної мембрани, так і міто K_{ATP} роблять позитивний внесок у забезпечення функціонування м'язових клітин. Хоча їх диференційне дослідження в інтактних клітинах ускладнюється подібними фармакологічними профілями та однаковою відповіддю на деякі чинники, зокрема ішемію та метаболічне інгібування, але наявність високоселективних до K^+ флуоресцентних зондів і можливість пра-

цювати на ізольованій фракції мітохондрій дещо спрощує це завдання. Таким чином, подальші дослідження в цьому напрямі є можливими і досить перспективними.

Автор висловлює подяку зав. відділу біохімії м'язів ІБХ ім. О. В. Палладіна член-кор. НАНУ проф. С. О. Костеріну та н.с. лаб. сигнальних механізмів клітини к.б.н. Д. М. Петухову за участь в обговоренні та допомогу в редагуванні статті.

АТР-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫЕ K⁺-КАНАЛЫ КЛЕТОК МЫШЦ: СВОЙСТВА И ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ

О. Б. Вадзюк

Институт биохимии им. А. В. Палладина
НАН Украины, Киев;
e-mail: vadzyuk@biochem.kiev.ua

АТР-чувствительные K⁺-каналы относятся к типу K⁺-каналов внутреннего выпрямления (K⁺ inward rectifier или Kir). Они участвуют в сопряжении электрической активности мышечной клетки с ее метаболическим состоянием. Каналообразующие субъединицы K_{АТР}-каналов (Kir 6.x) имеют высокоселективный фильтр и высокую проводимость для K⁺, тогда как регулирующие субъединицы несут сайты связывания активаторов и блокаторов, а также имеют метаболический сенсор, который отвечает за активацию канала в условиях метаболического стресса. Проводимость K_{АТР}-каналов миоцитов большинства типов селективно блокируется АТР. Однако, работа этих каналов зависит не от абсолютных значений концентрации АТР, а от соотношения АТР/АДР и присутствия Mg²⁺. Регуляция активности K_{АТР}-каналов в клетке осуществляется физиологическими веществами, такими как фосфатидилинозитол-дифосфат, эфиры жирных кислот. Активацию этих структур при ишемии связывают с их цитопротекторным действием, которое предотвращает перегрузку цитозоля Ca²⁺. В отличие от K_{АТР}-каналов плазматической мембраны, структура которых известна и субъединицы клонированы, данные относительно АТР-чувствительного переносчика K⁺ в митохондриальной мембране противоречивы. На данный момент достоверно не идентифицирована его каналообразующая субъединица, роль которой могут выполнять Kir 6.x, Kir 1.1 (каналообразующая субъединица канала ROMK), а также другие структуры. В обзоре рассмотрены методы регистрации АТР-чувствительного транспорта K⁺ в митохондриях, а также взаимодействие данной структуры с физиологическими и фармакологическими лигандами.

Ключевые слова: миоциты, ионы K, K_{АТР}-канал, Kir, SUR, митоK_{АТР}

АТР-SENSITIVE K⁺-CHANNELS IN MUSCLE CELLS: FEATURES AND PHYSIOLOGICAL ROLE

O. B. Vadzyuk

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: vadzyuk@biochem.kiev.ua

ATP-sensitive K⁺-channels of plasma membranes belong to the inward rectifier potassium channels type. They are involved in coupling of electrical activity of muscle cell with its metabolic state. These channels are heterooctameric and consist of two types of subunits: four poreforming (Kir 6.x) and four regulatory (SUR, sulfonylurea receptor). The Kir subunits contain highly selective K⁺ filter and provide for high-velocity K⁺ currents. The SUR subunits contain binding sites for activators and blockers and have metabolic sensor, which enables channel activation under conditions of metabolic stress. ATP blocks K⁺ currents through the ATP-sensitive K⁺-channels in the most types of muscle cells. However, functional activity of these channels does not depend on absolute concentration of ATP but on the ATP/ADP ratio and presence of Mg²⁺. Physiologically active substances, such as phosphatidylinositol bisphosphate and fatty acid esters can regulate the activity of these structures in muscle cells. Activation of these channels under ischemic conditions underlies their cytoprotective action, which results in prevention of Ca²⁺ overload in cytosol. In contrast to ATP-sensitive K⁺-channels of plasma membranes, the data regarding the structure and function of ATP-sensitive K⁺-channels of mitochondrial membrane are contradictory. Pore-forming subunits of this channel have not been firmly identified yet. ATP-sensitive K⁺ transport through the mitochondrial membrane is easily tested by different methods, which are briefly reviewed in this paper. Interaction of mitoK_{АТР} with physiological and pharmacological ligands is discussed as well.

Key words: myocytes, potassium ions, ATP-sensitive K⁺-channels, Kir, SUR, mitoK_{АТР}

1. Shieh Ch.-Ch., Coghlan M., Sullivan J. P., Gopalakrishnan M. // Pharmacol. Rev. – 2000. – 52, N 4. – P. 557–593.
2. MacKinnon R. // FEBS Letters. – 2003. – 55. – P. 62–65.

3. Tamargo J., Caballero R., Gómez R., Valenzuela C., Delpón E. // *Cardiovasc. Res.* – 2004. – **62**. – P. 9–33.
4. Шуба Я. М. Основы молекулярної фізіології іонних каналів. – К.: Наук. думка, 2010. – 446 с.
5. Dick G., Tune J. // *Exp. Biol. Med.* – 2010. – **235**. – P. 10–22.
6. Amberg G., Koh S. D., Imaizumi Y. et al. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2003. – **284**. – P. c583–c595.
7. Straub S., Nelson M. // *J. Physiol.* – 2006. – **575**, 3. – P. 691.
8. Sobey C. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2001. – **21**. – P. 28–38.
9. Berkefeld H., Fakler B., Schulte U. // *Physiol. Rev.* – 2010. – **90**. – P. 1437–1459.
10. Meredith A. L., Thorneloe K. S., Werner M. E. et al. // *JBC.* – 2004. – **279**. – P. 36746–36752.
11. Brown A., Cornwell T., Korniyenko I. et al. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2007. – **292**. – P. C832–C840.
12. O'Connell A., Morton M. J., Hunter M. // *BBA.* – 2002. – **1566**. – P. 152–161.
13. Hibino H., Inanobe A., Furutani K. et al. // *Physiol. Rev.* – 2010. – **90**. – P. 291–366.
14. Farzaneh F., Tinker A. // *Cardiovasc. Res.* – 2008. – **79**. – P. 621–631.
15. Noma A. // *Nature.* – 1983. – **305**. – P. 147–148.
16. Yokoshiki H., Sunagawa M., Seki T., Sperelakis N. // *Am. J. Physiol.* – 1998. – **274**. – P. C25–C37.
17. Nielsen J., Kristensen M., Hellsten Y. et al. // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2003. – **284**. – P. R558–R563.
18. Quast U. // *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* – 1996. – **354**. – P. 213–225.
19. Wan E., Kushner J. S., Kushner J. S., Zakharov S. et al. // *FASEB J.* – 2013. – **27**, N 5. – P. 1859–1867.
20. Patel A. J., Honore E. // *Eur. Respir. J.* – 2001. – **18**. – P. 221–227.
21. Aguilar-Bryan L., Bryan J. // *Endocr. Rev.* – 1999. – **20**, N 2. – P. 101–135.
22. Teramoto N. // *J. Physiol.* – 2006. – **572**, N 3. – P. 617–624.
23. Minami K. // *Diabetes.* – 2004. – **53**, N 3. – P. S176–S180.
24. Bryan J., Vila-Carriles W. H., Zhao G. et al. // *Diabetes.* – 2004. – **53**, N 3. – P. S104–S112.
25. Li L., Wang J., Drain P. // *Biophys. J.* – 2000. – **79**. – P. 841–852.
26. Shyng S., Cukras C. A., Harwood J., Nichols C. G. // *J. Gen. Physiol.* – 2000. – **116**. – P. 599–608.
27. Flagg T., Enkvetchakul D., Koster J. C., Nichols C. G. // *Physiol. Rev.* – 2010. – **90**. – P. 799–829.
28. Tucker S., Gribble F. M., Zhao C. et al. // *Nature.* – 1997. – **387**. – P. 179–183.
29. Trapp S., Proks P., Tucker S. J., Ashcroft F. M. // *J. Gen. Physiol.* – 1998. – **112**. – P. 333–349.
30. Burke M., Mutharasan R. K., Ardehali H. // *Circ. Res.* – 2008. – **102**. – P. 164–176.
31. Pratt E., Zhou Q., Gay J. W., Shyng S.-L. // *J. Cell Biol.* – 2012. – **140**, N 2. – P. 175–187.
32. de Wet H., Shimomura K., Aittoniemi J. et al. // *J. Physiol.* – 2012. – **590**. – P. 5025–5036.
33. Han J., Kim N., Joo H., Kim E., Earm Y. E. // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2002. – **283**. – P. H1545–H1554.
34. Enkvetchakul D., Nichols C. // *J. Gen. Physiol.* – 2003. – **122**. – P. 471–480.
35. Linton K. // *Physiology.* – 2007. – **22**. – P. 122–130.
36. Chan K., Zhang H., Logothetis D. E. // *EMBO J.* – 2003. – **22**. – P. 3833–3843.
37. Mikhailov M., Campbell J. D., de Wet H. et al. // *EMBO J.* – 2005. – **24**. – P. 4166–4175.
38. Masia R., Nicols C. // *JBC.* – 2008. – **283**. – P. 30322–30329.
39. Inagaki N., Gono T., Clement J. P. 4th et al. // *Science.* – 1995. – **270**. – P. 1166–1170.
40. Hosy E., Dérand R., Revilloud J., Vivaudou M. // *J. Physiol.* – 2007. – **582**. – P. 27–39.
41. Zerangue N., Schwappach B., Jan Y. N., Jan L. Y. // *Neuron.* – 1999. – **22**. – P. 537–548.
42. Conti L., Radeke C. M., Vandenberg C. A. // *JBC.* – 2002. – **277**. – P. 25416–25422.
43. Inagaki N., Inazawa J., Seino S. // *Genomics.* – 1995. – **30**. – P. 102–104.
44. Suzuki M., Ronald A. L., Miki T. et al. // *Circ. Res.* – 2001. – **88**. – P. 570–577.
45. Hambrook A., Löffler-Walz C., Kloor D. et al. // *Mol. Pharmacol.* – 1999. – **55**. – P. 832–840.
46. Hambrook A., Kayar T., Stumpp D., Hartmut O. // *Diabetes.* – 2004. – **53**, Suppl. 3. – P. S128–134.
47. Karger A., Park S., Reyes S. et al. // *J. Gen. Phys.* – 2008. – **131**. – P. 185–196.
48. Yamada M., Kurachi Y. // *Mol. Pharmacol.* – 2004. – **65**. – P. 1198–1207.
49. Gribble F., Reimann F., Ashfield R., Ashcroft F. M. // *Mol. Pharmacol.* – 2000. – **57**. – P. 1256–1261.
50. Schwanstecher M., Sieverding C., Dorschner H. // *EMBO J.* – 1998. – **17**. – P. 5529–5535.

51. Gribble F. M., Tucker S. J., Ashcroft F. M. // *EMBO J.* – 1997. – **16**. – P. 1145–1152.
52. Koster J. C., Sha Q., Nichols C. G. // *J. Gen. Physiol.* – 1999. – **114**. – P. 203–213.
53. Shimokawa J., Yokoshiki H., Tsutsui H. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2007. – **293**. – P. H3643–H3649.
54. Beech D., Zhang H., Nakao K., Bolton T. B. // *Br. J. Pharmacol.* – 1993. – **110**. – P. 573–582.
55. Pfrunder D., Anghelescu I., Kreye V. A. // *Pflugers Arch.* – 1993. – **423**. – P. 149–151.
56. Terzic A., Findlay I., Hosoya Y., Kurachi Y. // *Neuron.* – 1994. – **12**. – P. 1049–1058.
57. Tung R. T., Kurachi Y. // *J. Physiol.* – 1991. – **437**. – P. 239–256.
58. Crawford R., Ranki H., Botting C. et al. // *FASSEB J.* – 2002. – **16**. – P. 102–104.
59. Crawford R., Budas G. R., Jovanovic S. et al. // *EMBO J.* – 2002. – **21**. – P. 3936–3948.
60. Carrasco A., Dzeja P. P., Alekseev A. E. et al. // *PNAS.* – 2001. – **98**. – P. 7623–7628.
61. Yokoshiki H., Katsube Y., Sunugawa M. et al. // *Pflugers Arch.* – 1997. – **434**. – P. 203–205.
62. Terzic A., Kurachi Y. // *J. Physiol.* – 1996. – **492**. – P. 395–404.
63. Quinn K. V., Giblin J. P., Tinker A. // *Circ. Res.* – 2004. – **94**. – P. 1359–1366.
64. Shi Y., Wu Z., Cui N. et al. // *Am. J. Physiol.* – 2007. – **293**. – P. R1205–1214.
65. Cole W., Malcolm T., Walsh M. P., Light P. E. // *Circ Res.* – 2000. – **87**. – P. 112–117.
66. Light P., Sabir A. A., Allen B. G. et al. // *Circ Res.* – 1996. – **79**. – P. 399–406.
67. Manning Fox J., Karaman G., Wheeler M. B. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – **350**, N 2. – P. 492–497.
68. Proks P., Takano M., Ashcroft F. M. // *J. Physiol.* – 1994. – **475**. – P. 33–44.
69. Koyano T. M., Kakei M., Nakashima H. et al. // *J. Physiol.* – 1993. – **463**. – P. 747–766.
70. Xu H., Wu J., Cui N., Abdulkadir L. et al. // *JBC.* – 2001. – **276**. – P. 38690–38696.
71. Ribalet B., John S. A., Xie L. H., Weiss J. N. // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2005. – **39**. – P. 71–77.
72. Xie L., John S. A., Ribalet B., Weiss J. N. // *J. Physiol.* – 2008. – **586**. – P. 1833–1848.
73. Hilgemann D., Ball R. // *Science.* – 1996. – **273**. – P. 956–959.
74. Manning Fox J., Nichols C. G., Light P. E. // *Mol. Endocrinol.* – 2004. – **18**. – P. 679–686.
75. Kane G. C., Liu X. K., Yamada S. et al. // *J. Mol. Cell Cardiol.* – 2005. – **38**. – P. 937–943.
76. Terzic A., Jahangir A., Kurachi Y. // *Am. J. Physiol.* – 1995. – **269**. – P. C525–545.
77. Loukogeorgakis S., Williams R., Panagiotidou A. T. et al. // *Circulation.* – 2007. – **116**. – P. 1386–1395.
78. Okagawa K., Ikewaki K., Taniguchi I. et al. // *Int. Heart J.* – 2007. – **48**. – P. 337–345.
79. Huffmyer J., Raphael J. // *Semin. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* – 2009. – **13**, N 1. – P. 1–5.
80. Gumina R., Pucar D., Bast P. et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* – 2003. – **284**. – P. H2106–2113.
81. Li L., Wu J., Jiang C. // *J. Membr. Biol.* – 2003. – **196**. – P. 61–69.
82. Brayden J. // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* – 2002. – **29**. – P. 312–316.
83. Quayle J., Turner M. R., Burrell H. E., Kamishima T. // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2006. – **291**. – P. H71–80.
84. Daut J., Maier-Rudolph W., von Beckerath N. et al. // *Science.* – 1990. – **247**. – P. 1341–1344.
85. Stoller D., Fahrenbach J. P., Chalupsky K. et al. // *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* – 2010. – **299**, N 4. – P. H1100–H1108.
86. Miki T., Suzuki M., Shibasaki T. et al. // *Nat. Med.* – 2002. – **8**. – P. 466–472.
87. Chutkow W. A., Pu J., Wheeler M. T. et al. // *J. Clin. Invest.* – 2002. – **110**. – P. 203–208.
88. Quayle J. M., Nelson M. T., Standen N. B. // *Physiol. Rev.* – 1997. – **77**. – P. 1165–1232.
89. Teramoto N., Zhu H.-L., Shibata A. et al. // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* – 2009. – **296**. – P. F107–F117.
90. Xu Ch., You X., Gao Lu et al. // *Reprod. Biol. Endocrinol.* – 2011. – **9**, N 35. – P. 1–7.
91. Bonev D., Nelson M. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 1993. – **264** N 5. – P. C1190–C1200.
92. Han J., So I., Kim E. Y., Earm Y. E. // *Pflugers Arch.* – 1993. – **425**. – P. 546–548.
93. Matar W., Nosek T. M., Wong D., Renaud J.-M. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2000. – **278**. – P. C404–416.
94. Halestrap A. P., Clarke S. J., Khaliulin I. // *BBA.* – 2007. – **1767**. – P. 1007–1031.
95. Foster D. B., Rucker J. J., Marban E. // *BBRC.* – 2008. – **366**, N 3. – P. 649–656.
96. Garlid K., Paucek P., Yarov-Yarovoy V. et al. // *JBC.* – 1996. – **271**. – P. 8796–8799.

97. Mironova G., Negoda A. E., Marinov B. S. et al. // JBC. – 2004. – **279**, N 31. – P. 32562–32568.
98. Paucek P., Mironova G., Mahdi F. et al. // JBC. – 1992. – **267**. – P. 26062–26069.
99. Bajgar R., Seetharaman S., Kowaltowski A. J. et al. // JBC. – 2001. – **276**. – P. 33369–3337.
100. Ye B., Kroboth S. L., Pu J.-L. et al. // Circ. Res. – 2009. – **105**. – P. 1083–1093.
101. Szewczyk A., G. Wojcik, Lobanov N. A., Nalecz M. J. // BBRC. – 1997. – **230**. – P. 611–615.
102. Queliconi B., Wojtovich A. P., Nadtochiy S. M. et al. // BBA. – 2011. – **1813**, N 7. – P. 1309–1315.
103. Ardehali H., Chen Z., Ko Y. et al. // PNAS. – 2004. – **101**, N 32. – P. 11880–11885.
104. Kowaltowski A., Seetharaman S., Paucek P., Garlid K. D. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2001. – **280**. – P. H649–H657.
105. Wojtovich A., Nehrke K. W., Brookes P. S. // Acta Biochimica Polonica. – 2010. – **57**, N 4. – P. 431–434.
106. Wojtovich A. P., Brookes P. S. // Basic Res. Cardiol. – 2009. – **104**. – P. 121–129.
107. Garlid K., Sun X., Paucek P., Woldegiorgis G. // Methods Enzymol. – 1995. – **260**. – P. 331–348.
108. Adebisi A., McNally E. M., Jaggar J. H. // Mol. Pharmacol. – 2008. – **74**, N 3. – P. 736–743.
109. Yang L., Yu T. // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2010. – **139**. – P. 1057–1063.
110. Foster D., Ho A. S., Rucker J. et al. // Circ Res. – 2012. – **111**. – P. 446–454.
111. Inoue I., Nagase H., Kishi K., Higuti T. // Nature. – 1991. – **352**. – P. 244–247.
112. Rottlaender D., Boengler K., Wolny M. et al. // PNAS. – 2012. – **109**, N 5. – P. 242–251.
113. Garlid K., Paucek P. // BBA. – 2003. – **1606**. – P. 23–41.
114. Facundo H., de Paula J. G., Kowaltowski A. J. // Free Radic. Biol. Med. – 2007. – **42**. – P. 1039–1048.
115. Costa A., Quinlan C. L., Andrukhiv A. et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2006. – **290**. – P. H406–H415.
116. Garlid K., Halestrap A. // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2012. – **52**. – P. 578–583.
117. Вадзюк О. Б., Костерін С. О. // Укр. біохім. журнал. – 2008. – **80**, № 5. – С. 45–51.
118. Вадзюк О. Б., Чуніхін О. Ю., Костерін С. О. // Укр. біохім. журнал. – 2010. – **82**, № 4. – С. 40–47.
119. Murphy E., Steenbergen C. // Physiol. Rev. – 2008. – **88**. – P. 581–609.
120. Simerabet M., Robin E., Aristi I. et al. // Brain Research. – 2008. – **1240**. – P. 177–184.
121. Jaburek M. // Circ. Res. – 2006. – **99**. – P. 878–883.
122. Iwai T., Tanonaka K., Koshimizu M., Takeo S. // Br. J. Pharmacol. – 2000. – **129**. – P. 1219–1227.
123. Aggarwal N. T., Pravdic D., McNally E. et al. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2010. – **299**. – P. H1884–H1890.

Отримано 21.05.2013