

## КАЛЬЦИЙ-АКТИВИРУЕМЫЕ ХЛОРНЫЕ КАНАЛЫ: РОЛЬ ИОНОВ КАЛИЯ

© 2024 г. В. Л. Замоийский\*, А. В. Габрельян\*, В. В. Григорьев\*

\*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки “Институт физиологически активных веществ РАН”,  
Северный проезд, 1, г. Черноголовка, Московская область, 142432 Россия

@E-mail: vzam@yandex.ru

Поступила в редакцию 20.05.2022

После доработки 21.11.2023

Принята к публикации 22.11.2023

Методом patch-clamp в конфигурации whole-cell показано, что концентрация ионов калия с наружной стороны мембраны клетки играет важную роль в регулировании кальций-активируемых хлорных токов. Показана зависимость амплитуды и направления трансмембранного движения хлорных токов от изменений концентрации калия с наружной стороны мембраны. Изменение концентрации катионов натрия, магния и кальция с наружной стороны мембраны не оказывало сопоставимого эффекта на эти хлорные токи. При этом влияние, оказываемое калием на амплитуды хлорных токов, было существенно больше, чем влияние, оказываемое им на другие потенциалозависимые ионные токи в клетке: натриевые, калиевые, катионные. Эти результаты дают основания предполагать, что изменение амплитуд хлорных токов может вносить свой вклад в патофизиологические процессы, характерные для гипокалиемии и гиперкалиемии.

**Ключевые слова:** кальций-активируемые хлорные каналы (КАХК), клетки Пуркиньи мозжечка, ионы калия, ионы цезия, метод patch-clamp.

**DOI:** 10.31857/S1026347024030082, **EDN:** VAJDC

Вопрос регуляции кальций-активируемых хлорных каналов (КАХК) является весьма актуальным в свете значительного участия КАХК во многих важнейших физиологических и патофизиологических процессах в организме млекопитающих, в том числе и человека. КАХК опосредуют секрецию  $Cl^-$  в секреторных эпителиях, таких как дыхательные пути, слюнные железы, кишечник, почечные канальцы и потовые железы. Наличие КАХК установлено также в гладких мышцах дыхательных путей и сосудов, где они контролируют тонус сосудов и гиперчувствительность дыхательных путей. Доказана роль КАХК в механизмах гипертонии, астмы, муковисцидоза, ноцицепции, нарушении функционирования желудочно-кишечного тракта, патологии уретры — Кунцельман с соавт., Камаледдин, Джи с соавт. (Kunzelmann *et al.*, 2011; Kamaledin, 2018; Ji *et al.*, 2019; Григорьев, 2021). Хотя установлены некоторые механизмы взаимодействия КАХК с различными клеточными сигнальными путями, включающими рецептор эпидермального фактора роста (EGFR), митоген-активируемые протеинкиназы (МАРК), кальмодулин-регулируемые киназы (CaM), трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) — Кроттес и Ян (Crottès, Jan, 2019), многие другие возможные механизмы регуляции КАХК остаются неисследованными.

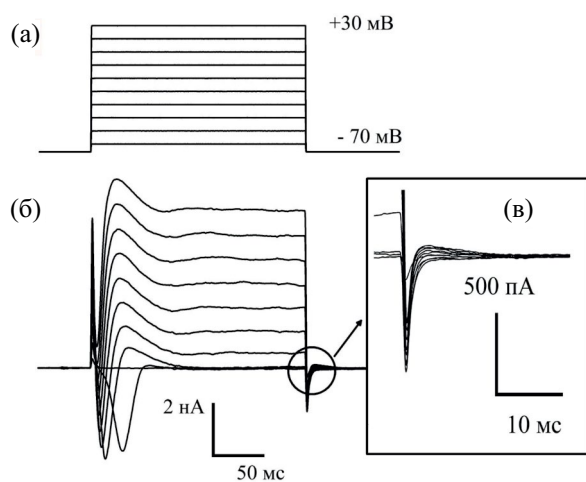
Целью данной работы было исследование роли эндогенных электролитов, а именно ионов калия, в регуляции токов КАХК. Калий был выбран в связи с тем, что он играет важнейшую роль в физиологических процессах и даже незначительные изменения в концентрации его ионов в крови или спинномозговой жидкости приводят к весьма существенным патофизиологическим процессам, описываемым терминами “гипокалиемия” и “гиперкалиемия”.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования осуществляли электрофизиологическим методом на свежeweделенных нейронах Пуркиньи из мозжечка мозга крыс самцов (12–15 дней) линии Вистар. Выделение единичных нейронов проводили ферментно-механическим способом Канада с соавт. (Kaneda *et al.*, 1988). Трансмембранные токи отдельных нервных клеток регистрировали методом локальной фиксации потенциала (patch-clamp) в конфигурации на целой клетке (whole-cell) Хэмилл с соавт. (Hamill *et al.*, 1981) с помощью прибора ЕРС-9 (НЕКА, Германия). Такой метод позволяет регистрировать суммарный (интегральный) токовый ответ клетки. Данные обрабатывали при помощи программы Pulsfit (НЕКА, Германия).

В экспериментах при потенциале фиксации на мембране клетки ( $-70$  мВ) использовали физиологический раствор, содержащий 140 мМ NaCl, 5 мМ KCl, 2 мМ  $MgCl_2$ , 2 мМ  $CaCl_2$ , 10 мМ HEPES, (pH 7,36), осмолярность 305—315 мосм; внешний раствор без натрия содержал: 140 мМ Трис-HCl, 5 мМ KCl, 2 мМ  $MgCl_2$ , 2 мМ  $CaCl_2$ , 10 мМ HEPES (pH 7,36), осмолярность 305—315 мосм. В микропипетке — электроде — использованы два варианта растворов: 1) 120 мМ KCl, 2 мМ  $MgCl_2$ , 11 мМ EGTA, 10 мМ HEPES, 5 мМ  $K_2ATP$  (pH 7,2), осмолярность 285—295 мосм и 2) 120 мМ CsCl, 2 мМ  $MgCl_2$ , 11 мМ EGTA, 10 мМ HEPES, 5 мМ  $K_2ATP$  (pH 7,2), осмолярность 285—295 мосм. Растворы с концентрациями наружного калия в 9 и 15 мМ готовили из стандартного наружного раствора добавлением соответствующего количества 1 М раствора KCl. Раствор с 0 мМ наружного KCl готовили по прописи наружного раствора, без добавления KCl. Из этого раствора также готовили растворы с CsCl, добавляя необходимые количества 1 М раствора CsCl.

На рис. 1 показана запись протокола получения интегрального ответа электровозбудимых токов клетки (б) на серию деполяризующих импульсов (а) с шагом 10 мВ, от потенциала фиксации ( $-70$  мВ) до  $+30$  мВ на мембране клетки. Условия регистрации: в пипетке ВПР с калием, снаружи — стандартный физиологический раствор. Токи, активирующиеся «вниз» сразу после подачи импульса, на рис. 1, б — входящие в клетку токи (натриевые и кальциевые); токи, активирующиеся «вверх» на протяжении действия импульса, — выходящие калиевые и катионные токи; небольшие токи, активирующиеся по окончании импульса, направленные «вверх», — входящие кальций-активируемые хлорные токи (показаны с увеличением на рис. 1в).



**Рис. 1.** а — серия деполяризующих импульсов, подаваемых на клетку, от потенциала фиксации ( $-70$  мВ), с шагом в 10 мВ, до  $+30$  мВ на мембране, в конфигурации whole-cell; б — зарегистрированный ответ токов клетки на деполяризующие импульсы; в — токи, появляющиеся по окончании деполяризующих импульсов.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

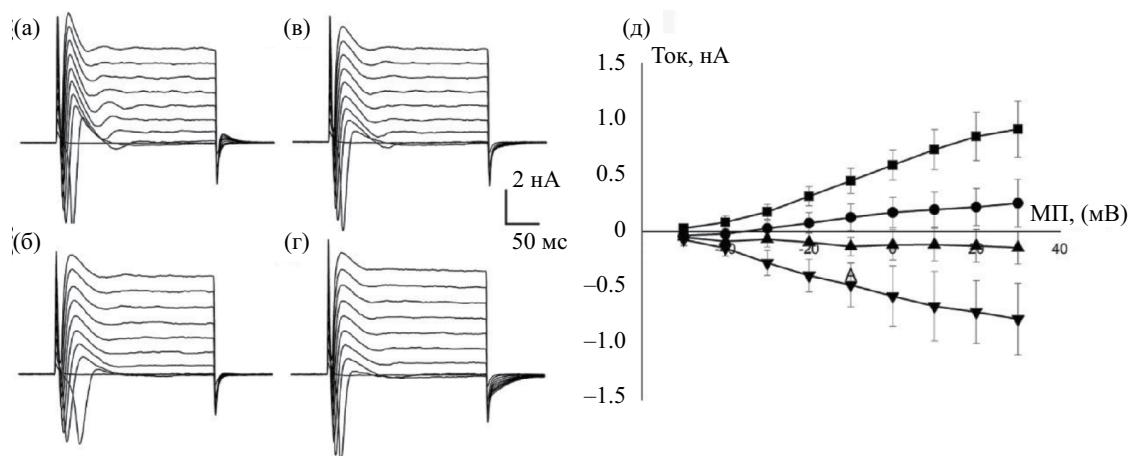
### *Внутрипипеточный раствор содержит калий*

В первой серии проведенных исследований, когда внутрипипеточный раствор (ВПР) содержал 120 мМ калия, а снаружи был стандартный физиологический раствор, содержащий 5 мМ калия, при подаче серии деполяризующих импульсов можно было наблюдать после входящих быстрых натриевых токов и выходящих калиевых токов выходящий ток небольшой амплитуды (рис. 1б, 2а-г). Величина этого тока обычно не превышала 100—300 пА при потенциале на мембране  $+30$  мВ. В предыдущих исследованиях нами было показано, что этот ток является кальций-активируемым хлорным током (КАХТ), который соответствует входу ионов хлора внутрь клетки (Вихарева и др., 2015, 2016). Уменьшение концентрации ионов наружного калия (далее —  $[K^+]_{нар.}$ ) до 0 мМ вело к увеличению (или к появлению, в случае отсутствия тока при 5 мМ KCl) КАХТ (рис. 2а). Увеличение концентрации наружного калия до 9—15 мМ вело к сдвигу потенциала реверсии этого тока в область ниже ( $-60$ ) мВ на мембране клетки. При  $[K^+]_{нар.} \sim 7$  мМ происходила полная реверсия направления хлорного тока, который становился «входящим». На графике видно, что амплитуда КАХТ значительно увеличивалась при увеличении концентрации калия до 9 мМ, а особенно она вырастала при увеличении концентрации калия до 15 мМ (рис. 2Г).

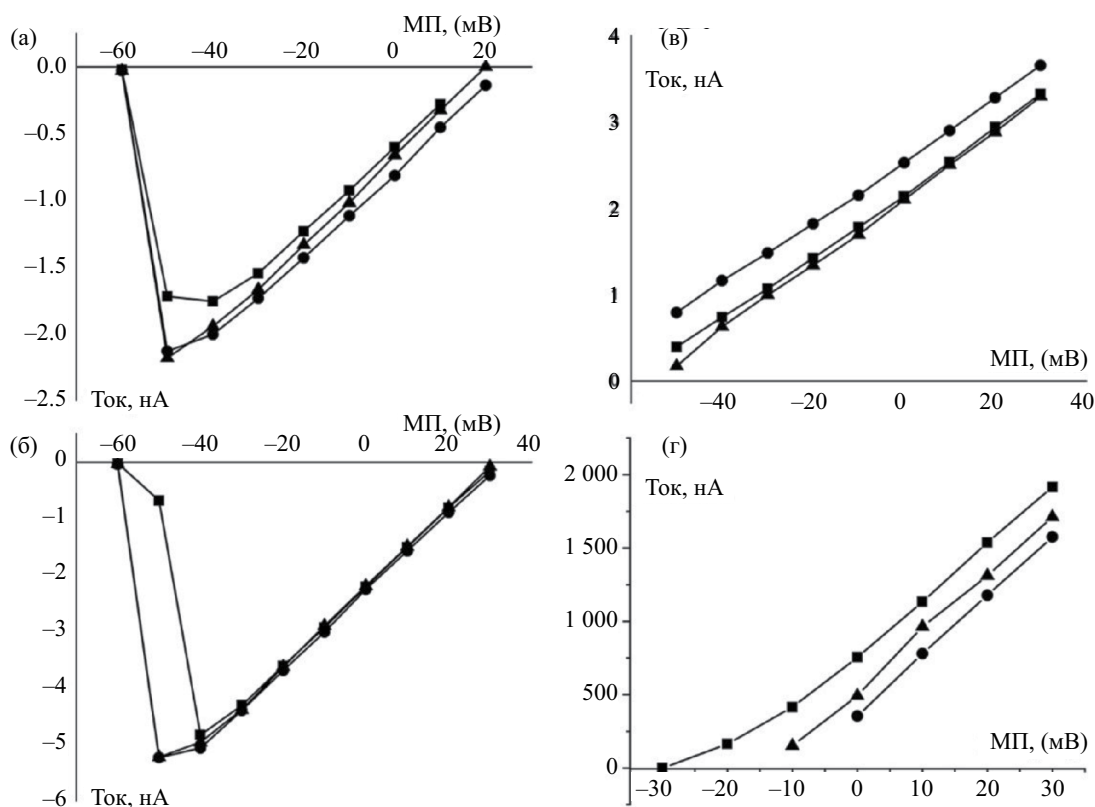
В этой же серии экспериментов, по исследованию влияния  $[K^+]_{нар.}$  на КАХТ, было показано, что изменение  $[K^+]_{нар.}$  не влияет на амплитуды входящих быстрых натриевых токов (рис. 3а) и на выходящие калиевые токи (рис. 3б). Изменение амплитуд как натриевых, так и калиевых токов не превышало 20 % от величин амплитуд этих токов в физиологическом растворе, содержащем 5 мМ калия. Причем не было различия, содержал ВПР калий или цезий (рис. 3). Некоторые результаты этих серий экспериментов были опубликованы ранее (Замойский и др., 2021).

### *Внутрипипеточный раствор содержит цезий*

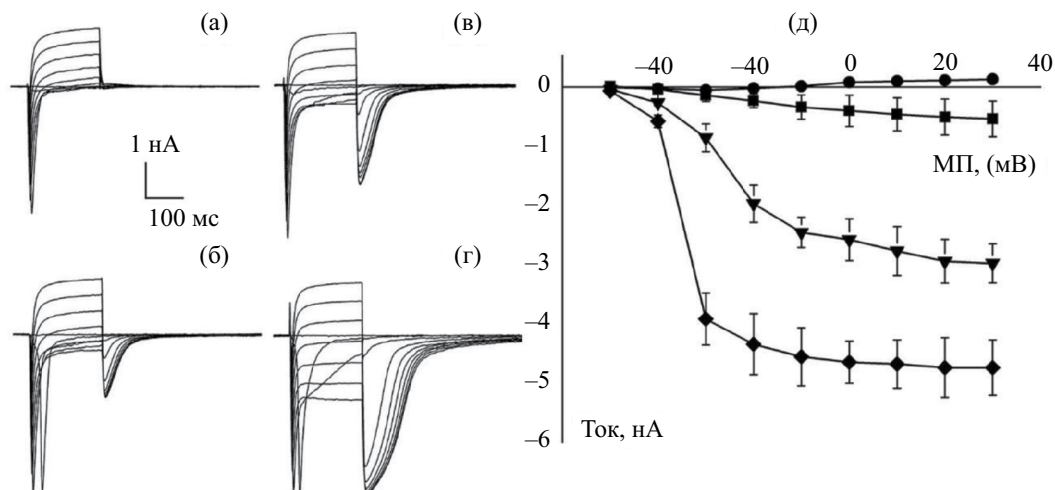
Во второй серии экспериментов использовали ВПР с цезием. Ранее мы показали, что замена ионов калия на ионы цезия в ВПР приводит к заметному увеличению КАХТ (Вихарева и др., 2016). В этом случае при подаче серии деполяризующих импульсов после завершения емкостного выброса в нормальном физиологическом растворе ( $[K^+]_{нар.} = 5$  мМ) можно было наблюдать «входящий» хлорный ток значительной амплитуды — порядка 500 пА при  $+30$  мВ на мембране. Снижение  $[K^+]_{нар.}$  приводило к уменьшению амплитуды этого тока, и при 0 мМ калия он исчезал совсем, или в некоторых нейронах появлялся очень маленький «выходящий» ток. Увеличение концентрации внешнего калия свыше 5 мМ приводило



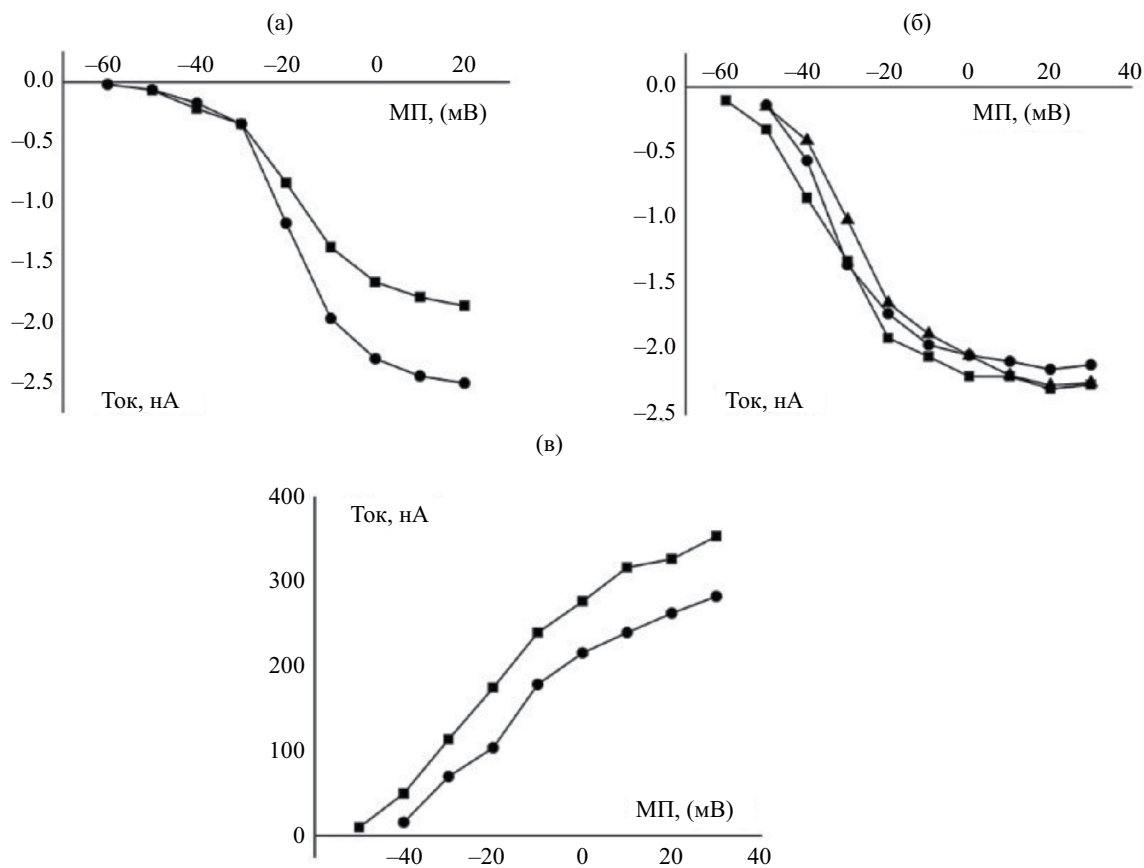
**Рис. 2.** Влияние различных концентраций калия в наружном растворе на амплитуду хлорных токов. Внутрипипеточный раствор содержит 120 мМ калия. Потенциал фиксации ( $-70$  мВ). а — интегральный ответ клетки в растворе с  $[K^+]_{нар} = 0$  мМ ( $n=9$ ); б — ответ в растворе с  $[K^+]_{нар} = 5$  мМ ( $n=20$ ); в — ответ в растворе с  $[K^+]_{нар} = 9$  мМ ( $n=7$ ); г — ответ в растворе с  $[K^+]_{нар} = 15$  мМ ( $n=4$ ); д — графики вольт-амперных характеристик, построенные для КАХТ при разных значениях  $[K^+]_{нар}$ . По оси абсцисс — величина тока в наноамперах, по оси ординат — мембранный потенциал в милливольтях. Квадраты —  $[K^+]_{нар} = 0$  мМ, круги —  $[K^+]_{нар} = 5$  мМ, треугольники —  $[K^+]_{нар} = 9$  мМ, перевернутые треугольники —  $[K^+]_{нар} = 15$  мМ.



**Рис. 3.** Влияние различных концентраций калия во внешнем растворе на амплитуду входящих и выходящих токов в нейронах Пуркинье. а — график зависимости амплитуды быстрых натриевых токов от  $[K^+]_{нар} = 0$  мМ (круги),  $[K^+]_{нар} = 5$  мМ (квадраты) и  $[K^+]_{нар} = 9$  мМ (треугольники). ВПР с калием; б — график зависимости амплитуды быстрых натриевых токов от  $[K^+]_{нар} = 0$  мМ (круги),  $[K^+]_{нар} = 5$  мМ (квадраты) и  $[K^+]_{нар} = 9$  мМ (треугольники). ВПР с цезием; в — график зависимости амплитуды максимального выходящего тока от  $[K^+]_{нар} = 0$  мМ (круги),  $[K^+]_{нар} = 5$  мМ (квадраты) и  $[K^+]_{нар} = 9$  мМ (треугольники). ВПР с цезием.



**Рис. 4.** Влияние различных концентраций калия во внешнем растворе на амплитуду хлорных токов; ВПР содержит 120 мМ цезия. а — токи от целой клетки при  $[K^+]_{нар.} = 0$  мМ; б — токи от целой клетки при  $[K^+]_{нар.} = 5$  мМ; в — токи от целой клетки при  $[K^+]_{нар.} = 9$  мМ; г — токи от целой клетки при  $[K^+]_{нар.} = 15$  мМ; д — график вольт-амперных характеристик КАХТ при  $[K^+]_{нар.} = 0$  мМ (круги); при  $[K^+]_{нар.} = 5$  мМ (квадраты); при  $[K^+]_{нар.} = 9$  мМ (треугольники); при  $[K^+]_{нар.} = 15$  мМ (ромбы).



**Рис. 5.** Влияние катионов наружного раствора на амплитуду КАХТ. а — влияние ионов натрия (черные квадраты — 140 мМ натрия снаружи, черные круги — 0 мМ натрия снаружи) ВПР с цезием; б — различная концентрация ионов магния (квадраты — 2 мМ, круги — 5 мМ, треугольники — 9 мМ) ВПР с цезием; в — наружный кальций (квадраты — 2 мМ, круги — 5 мМ) ВПР с калием.

к значительному росту амплитуды «входящего» хлорного тока (рис. 4 в-г). Вольт-амперные характеристики имели тенденцию к насыщению, при этом чем больше была концентрация наружного калия, тем быстрее КАХТ выходили на «плато» по своей амплитуде.

Таким образом, было показано, что амплитуда хлорного тока существенно зависит от концентрации калия снаружи мембраны и в случае заполнения электрода ВПР с цезием. Причем зависимость величины токов от концентрации наружного калия для ВПР с цезием оказалась более сильной, чем для случаев, где ВПР содержал калий. Максимальные амплитуды хлорных токов были для ВПР с цезием ( $-4.6 \pm 0.55$  нА,  $n = 23$ ) и для ВПР с калием ( $-0.75 \pm 0.3$  нА,  $n = 31$ ) для раствора с  $[K^+]_{нар.} = 15$  мМ при  $+30$  мВ на мембране.

#### Влияние концентраций других наружных катионов на КАХТ

Были поставлены эксперименты по выяснению степени влияния других катионов наружного физиологического раствора:  $Na^+$ ,  $Mg^{2+}$  и  $Ca^{2+}$ . Так, при полной замене NaCl на трис-Cl наблюдали некоторое увеличение амплитуды КАХТ (рис. 5а).

Этот эффект проявлялся для всех концентраций наружного калия, однако, учитывая тот факт, что концентрация натрия менялась радикальным образом (практически — на 2,5 порядка): от 140 мМ до 0, — эффект увеличения КАХТ был значительно меньше, чем при изменении  $[K^+]_{нар.}$  от 0 до 15 мМ. При изменении наружной концентрации ионов магния от 2 до 9 мМ амплитуда КАХТ оставалась неизменной, что видно на рис. 5б. Увеличение концентрации ионов кальция с наружной стороны с 2 до 5 мМ приводило к 20–25% уменьшению амплитуды КАХТ во всем диапазоне мембранных потенциалов (рис. 5в).

#### Замена ионов калия на ионы цезия с наружной стороны мембраны

Ионы цезия, имеющие больший радиус в водном растворе, чем ионы калия, используются в электрофизиологии как эффективный блокатор калиевых каналов с внутренней стороны мембраны клетки. Чтобы убедиться в уникальности влияния ионов наружного калия на амплитуду КАХТ, провели эксперименты, в которых ионы калия были заменены на эквимоллярные концентрации ионов цезия с наружной стороны мембраны. Результат такого эксперимента представлен на рис. 6, на котором видно, что изменение концентрации наружного цезия не влияет на амплитуду КАХТ.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования показали, что изменения в концентрации наружного калия приводят к существенному изменению амплитуды хлорных токов в нейронах головного мозга млекопитающих. Установлено, что наряду с необходимостью внутриклеточного кальция для активации хлорных токов огромную роль в их регуляции играют ионы внешнего калия. Это влияние ионов калия на КАХТ показано нами не впервые — ранее такое влияние калия было продемонстрировано для КАХТ нейронов моллюска (Гелетюк, Казаченко, 1983). Таким образом, этот механизм остается эволюционно неизменным для животных разных типов.

Установлены различия во влиянии калия на токи КАХК в зависимости от того, содержит ВПР калий или цезий. Например, на рис. 1б отчетливо видно, что с изменением концентрации наружного калия меняется не только вольт-амперная характеристика хлорного тока, но и потенциал реверсии этих токов. Так, если при 5 мМ ионов калия потенциал реверсии

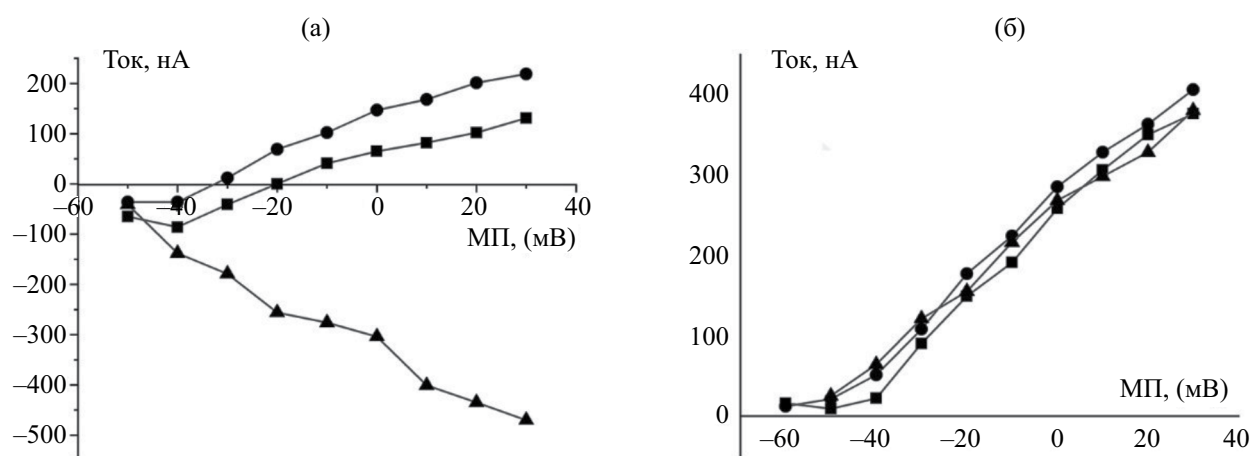
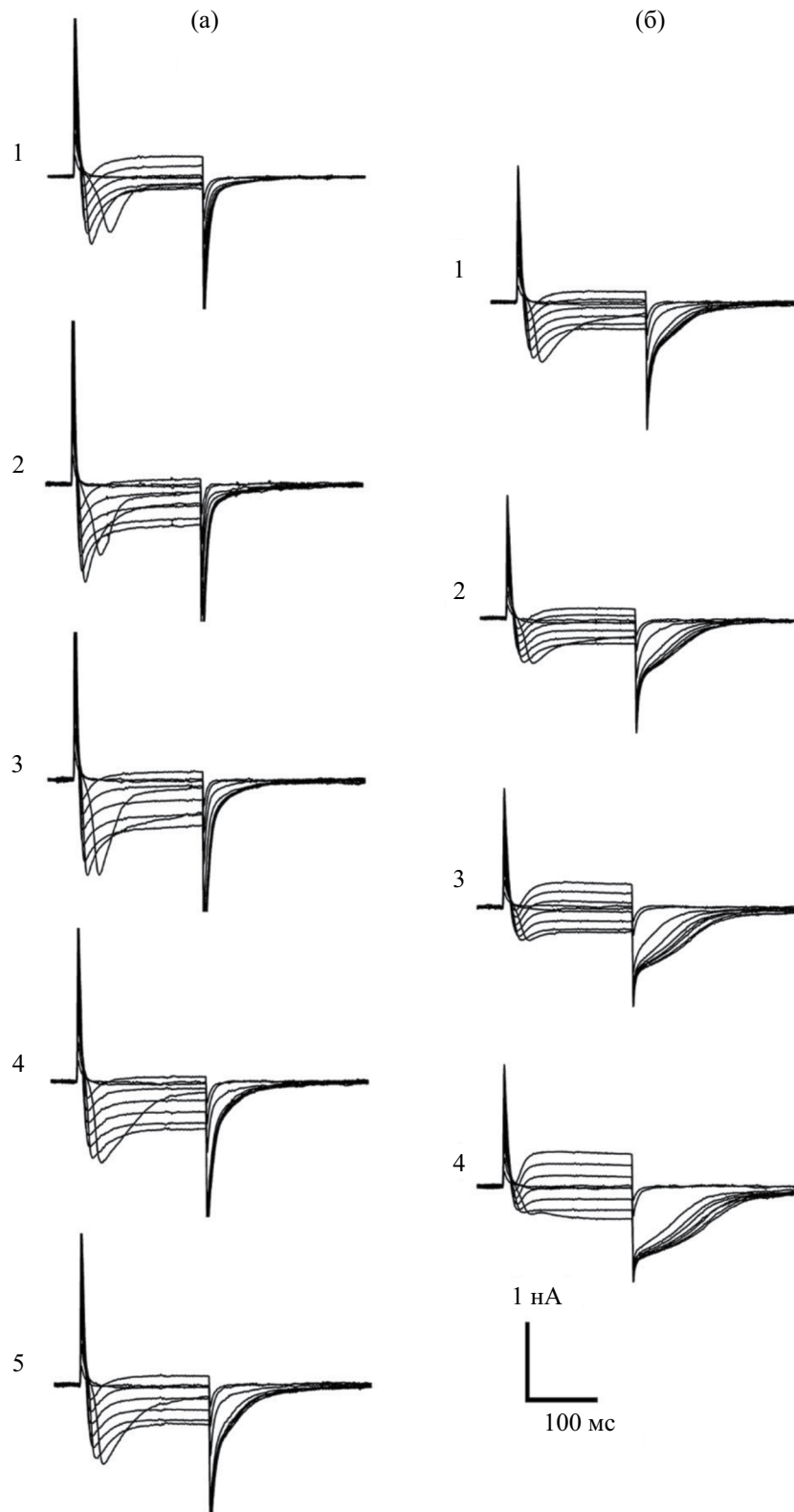


Рис. 6. Амплитуды КАХТ. а — при различных концентрациях ионов калия с наружной стороны (круги —  $[K^+]_{нар.} = 0$  мМ, квадраты —  $[K^+]_{нар.} = 5$  мМ, треугольники —  $[K^+]_{нар.} = 15$  мМ); б — при различных концентрациях ионов цезия с наружной стороны (круги —  $[Cs^+]_{нар.} = 5$  мМ, квадраты —  $[Cs^+]_{нар.} = 9$  мМ, треугольники —  $[Cs^+]_{нар.} = 15$  мМ).



**Рис. 7.** Действие низких (а) и высоких (б) концентраций ионов калия с наружной стороны мембраны одной клетки. А1 —  $[K^+]_{нар.} = 0$  мМ, А2 —  $[K^+]_{нар.} = 1$  мМ, А3 —  $[K^+]_{нар.} = 2$  мМ, А4 —  $[K^+]_{нар.} = 3$  мМ, А5 —  $[K^+]_{нар.} = 5$  мМ; Б1 —  $[K^+]_{нар.} = 5$  мМ, Б2 —  $[K^+]_{нар.} = 9$  мМ, Б3 —  $[K^+]_{нар.} = 15$  мМ, Б4 —  $[K^+]_{нар.} = 24$  мМ.

КАХК составляет (–25) мВ, то при более высоких концентрациях калия (9 мМ и 15 мМ) потенциал реверсии смещается в область мембранного потенциала ниже (–50) мВ. Подобное смещение не может быть объяснено в рамках уравнения Нернста для ионного канала, поскольку изменение концентрации хлора составляет +4 (при 9 мМ) или +13 мМ (при 15 мМ) при общей концентрации ионов хлора с обеих сторон мембраны порядка 153 мМ.

Полученные результаты свидетельствуют об избирательном влиянии некоторых экстраклеточных катионов и анионов на другие ионные каналы. Известным фактом является четкая зависимость активации целого ряда каналов — калиевых, хлорных и других — от концентрации внутриклеточного кальция — Брежестовский с соавт. (Bregestovski *et al.*, 1988; Григорьев, 2021). О влиянии каких-либо экстраклеточных ионов на каналы, проводящие отличные от них ионы, известно крайне мало. Нами показана зависимость быстрых натриевых токов в нейронах Пуркинье от концентрации наружного хлора (Замойский, Григорьев, 2017). Изложенные в данной статье и ранее (Замойский и др., 2021) результаты позволяют говорить о том, что наряду с внутриклеточной регуляцией кальцием в нейронах имеется значительное влияние ряда ключевых ионов — калия, хлора — на функционирование соседних каналов (и проводимых ими токов), осуществляемое ими с наружной стороны мембраны, т. е. концентрациями этих ионов в межклеточном матриксе и физиологических жидкостях (спинномозговой, эндолимфе уха и др.). Следует отметить, что это воздействие на другие ионные каналы является весьма избирательным. Например, в данной работе калий влиял на хлорные токи (каналы), но практически не влиял на быстрые натриевые токи и в гораздо меньшей степени влиял на собственно калиевые каналы (токи). В то же время нами показано, что анионы хлора радикально влияли на быстрые натриевые токи, но очень мало влияли на калиевые каналы (токи).

Полученные результаты позволяют также поновому взглянуть на патологические процессы, имеющие место при гипо- и гиперкалиемии. Хотя мы не имеем прямых данных, указывающих на участие КАХК в этих патологических процессах, полученные данные о высокой чувствительности хлорных токов к изменению концентрации межклеточного калия позволяют сделать предположение, что изменение их амплитуды вносит свой вклад в эти процессы. Особенно это заметно при низких концентрациях калия (рис. 7). Гипокалиемия (уровень калия ниже 3.5 мМ в крови) приводит к ряду тяжелых патологических состояний, ряд из которых может быть напрямую ассоциирован с уменьшением активности КАХК. Это снижение активности перистальтики желудочно-кишечного тракта с последующими запорами, вплоть до динамической кишечной непроходимости — Гуо с соавт. (Guo *et al.*, 2017), замедление рефлексов

и умственных процессов — Хуанг с соавт. (Huang *et al.*, 2012); патология мочеиспускания — Ю с соавт. (Yu *et al.*, 2015). Во всех этих случаях КАХК играют важную роль. Не всегда имеется возможность естественным путем (через питание) повысить содержание калия в крови или спинномозговой жидкости: этому могут препятствовать различные патологии метаболизма. В этих случаях прием активаторов или потенциаторов КАХК может снять патологии, связанные с низкой активностью КАХК.

В случае гиперкалиемии, которая характеризуется аритмией, ослаблением скелетной мускулатуры вплоть до паралича, неустойчивостью артериального давления, мы можем заключить, что некоторые из этих симптомов могут быть связаны с КАХК — например, неустойчивость артериального давления, поскольку известно, что КАХК играют важную роль в регуляции кровяного давления — Ванг с соавт. (Wang *et al.*, 2015). В этом случае прием блокаторов КАХК может существенно снизить патологические проявления гиперкалиемии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенного электрофизиологического исследования были сделаны следующие выводы:

Амплитуда токов кальций-активируемых хлорных каналов (КАХК) существенно зависит от концентрации внешнего калия.

В случае, когда внутривиточный раствор содержит вместо калия цезий, изменение амплитуды токов КАХК под действием внешнего калия выражено гораздо сильнее.

Амплитуда быстрых натриевых токов и выходящих калиевых токов гораздо менее чувствительна к изменению концентрации ионов внешнего калия по сравнению с токами КАХК.

Высокая чувствительность токов КАХК к изменению концентрации межклеточного калия позволяет сделать предположение, что КАХК вносят существенный вклад в патофизиологию гипо- и гиперкалиемии.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Государственного задания ИФАВ РАН № FFSN-2021-0005 (2021—2023).

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все манипуляции с экспериментальными животными выполнены в соответствии с требованиями, касающимися гуманного обращения с животными, и стандартными операционными процедурами Центра доклинических исследований Сеченовского Университета. Проведение экспериментов с животными

одобрено Комиссией по биомедицинской этике ИФАВ РАН (Протокол № 1018 от 16.05.2018).

### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вихарева Е.А., Замойский В.Л., Григорьев В.В., Бачурин С.О.* Кальций-активируемые хлорные токи в мембране клеток Пуркинье мозжечка крыс // ДАН. 2015. Т. 465, С. 372—374. DOI: 10.7868/S0869565215330282.
- Вихарева Е.А., Замойский В.Л., Григорьев В.В.* Модификация кальций-зависимых хлорных токов в нейронах Пуркинье мозжечка крыс // БЭБМ. 2016. Т. 162, С. 672—677. DOI: 10.1007/s10517-017-3694-1.
- Гелетюк В.И., Казаченко В.Н.* Одиночный калий-зависимый Cl-канал в нейронах моллюска: множественность состояний проводимости. // ДАН. 1983. Т. 268. № 5. С. 1245—1247.
- Григорьев В.В.* Кальций-активируемые хлорные каналы: структура, свойства, роль в физиологических и патологических процессах // Биомедицинская химия. 2021. Т. 67. № 1. С. 17—33. DOI: 10.18097/PBMS20216701017.
- Замойский В.Л., Григорьев В.В.* Ключевая роль ионов хлора в регуляции быстрых натриевых токов в нейронах крыс // ДАН. 2017. Т. 477. № 4. С. 493—495. DOI: 10.7868/S0869565217340229
- Замойский В.Л., Бовина Е.А., Бачурин С.О., Григорьев В.В.* Роль ионов калия в регуляции кальций-активируемых хлорных каналов. ДАН. 2021. Т. 500. С. 470—473. DOI: 10.31857/S2686738921050334.
- Bregestovski P.D., Printseva O.Y., Serebryakov V., Stinakre J., Turmin A., Zamoyski V.* Comparison of Ca<sup>2+</sup>-dependent K<sup>+</sup> channels in the membrane of smooth muscle cells isolated from adult and foetal human aorta // *Pflugers Archiv*. 1988. V. 413. P. 8—13.
- Crottès D., Jan L.Y.* The multifaceted role of TMEM16A in cancer // *Cell Calcium*. 2019. V. 82:102050. DOI: 10.1016/j.ceca.2019.06.004.
- Guo S., Chen Y., Pang C., Wang X., Qi J., Mo L., Zhang H., An H., Zhan Y.* Ginsenoside Rb1, a novel activator of the TMEM16A chloride channel, augments the contraction of guinea pig ileum // *Pflugers Archiv*. 2017. V. 469. P. 681—692. DOI:10.1007/s00424-017-1934-x.
- Hamill O.P., Marty A., Neher E., Sakmann B., Sigworth F.J.* Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches // *Pflugers Arch*. 1981. V. 391, P. 85—100. DOI:10.1007/BF00656997.
- Huang W.C., Xiao S., Huang F., Harfe B.D., Jan Y.N., Jan L.Y.* Calcium-activated chloride channels (CaCCs) regulate action potential and synaptic response in hippocampal neurons // *Neuron*. 2012. V. 12. № 74(1). P. 179—192. DOI: 10.1016/j.neuron.2012.01.033.
- Ji Q., Guo S., Wang X., Pang C., Zhan Y., Chen Y., An H.* Recent advances in MEM16A: Structure, function, and disease // *J Cell Physiol*. 2019. V. 234. P. 7856—7873. DOI: 10.1002/jcp.27865.
- Kamaleddin M.A.* Molecular, biophysical, and pharmacological properties of calcium-activated chloride channels // *J. Cell Physiol.*, 2018. V. 233. P. 787—798. DOI: 10.1002/jcp.25823.
- Kaneda M., Nakamura H., Akaike N.* Mechanical and enzymatic isolation of mammalian CNS neurons // *Neurosci. Res*. 1988. V. 5. P. 299—315. DOI: 10.1016/0168-0102(88)90032-6.
- Kunzelmann K., Tian Y., Martins J.R., Faria D., Kongsuphol P., Ousingsawat J., Thevenod F., Roussa E., Rock J., Schreiber R.* Anoctamins // *Pflugers Arch*. 2011. V. 462. P. 195—208. DOI: 10.1007/s00424-011-0975-9.
- Wang B., Li C., Huai R., Qu Z.* Overexpression of ANO1/TMEM16A, an arterial Ca<sup>2+</sup>-activated Cl-channel, contributes to spontaneous hypertension // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2015. V. 82. C.22—32. DOI: 10.1016/j.yjmcc. 2015.02.020.
- Yu K., Whitlock J.M., Lee K., Ortlund E.A., Cui Y.Y., Hartzell H.C.* Identification of a lipid scrambling domain in ANO6/TMEM16F // *Elife*. 2015. 4: e06901. DOI: 10.7554/eLife.06901.



## Calcium-activated chloride channels. Role of potassium ions

© 2024 V. L. Zamoyski\*, #, A. V. Gabrelian\*, V. V. Grigoriev\*

*\*Institute of Physiologically Active Compounds of the Russian Academy of Sciences,  
Chernogolovka, Severnyi Pr. 1, Moscow Region, 142432 Russia.*

*#E-mail: v zam@yandex.ru*

Using the patch-clamp method in the whole-cell configuration, it was shown that external potassium ions play an important role in the regulation of calcium-activated chloride currents. A clear dependence of the amplitude of chloride currents on changes in the concentration of external potassium is shown. Changes in concentration of sodium, magnesium and calcium ions from membrane outside have no so significant effect, like outside potassium ions. The effect of potassium on the amplitudes of chloride currents is significantly greater than the effect it has on other cell ionic currents — sodium, potassium, cation. There is reason to believe that a change in the amplitudes of chloride currents contributes to the pathophysiological processes characteristic of hypokalemia and hyperkalemia.

*Key words:* patch-clamp method, Purkinje cells of the cerebellum, calcium-activated chloride channels (CaCC), potassium ions.