

Canales Iónicos 1

Daniel Herrera

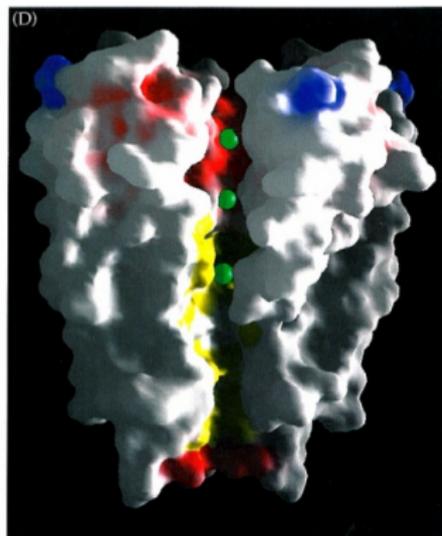
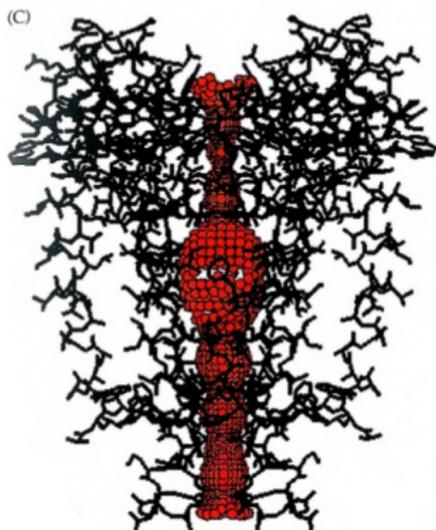
Laboratorio de Neurociencias, Facultad de Ciencias



Temas principales de la clase:

- Generalidades de los canales iónicos
- Relación entre propiedades macroscópicas y microscópicas
- Repasar rol de los canales en diferentes fenómenos
- Variedad de canales no-clásicos y sus efectos en excitabilidad

Son proteínas que forman poros en la membrana



Varias propiedades los caracterizan:

Varias propiedades los caracterizan:

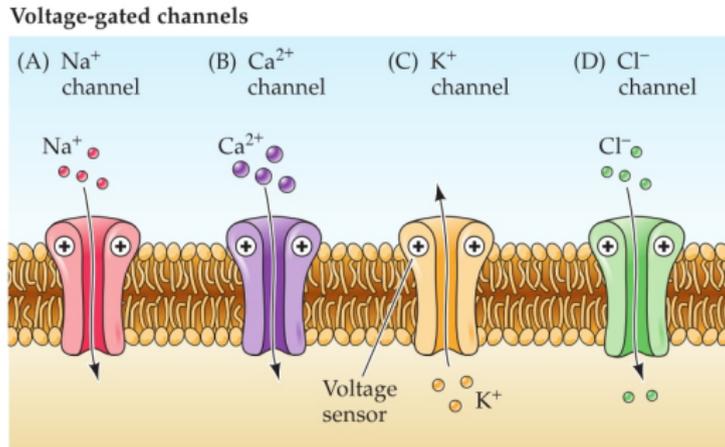
- Selectividad iónica
- Localización celular
- Pasivos o activos
- Estímulos que los abren
- Dinámica y dependencia del voltaje de su apertura, cierre, e inactivación
- Suceptibilidad a diferentes agentes químicos
- Otras

Varias propiedades los caracterizan:

- Selectividad iónica
- Localización celular
- Pasivos o activos
- Estímulos que los abren
- Dinámica y dependencia del voltaje de su apertura, cierre, e inactivación
- Suceptibilidad a diferentes agentes químicos
- Otras

Propiedades básicas: Selectividad

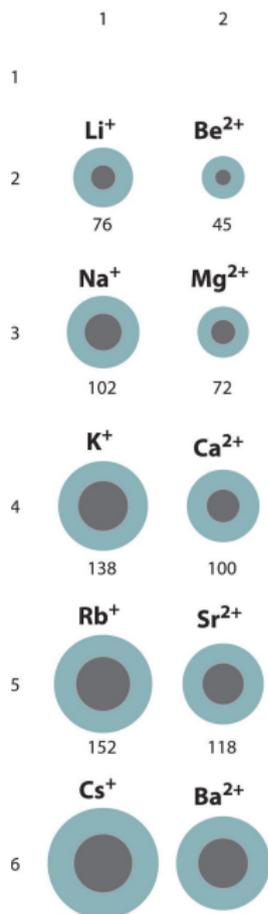
- Hay canales específicos a un ion (aunque hay diferentes grados de especificidad)
- Hay canales poco específicos (ej. la corriente Ih)
- Los canales son increíblemente selectivos para la gran velocidad que permiten



Propiedades básicas: ¿Cómo son selectivos?

Los iones varían en varios aspectos:

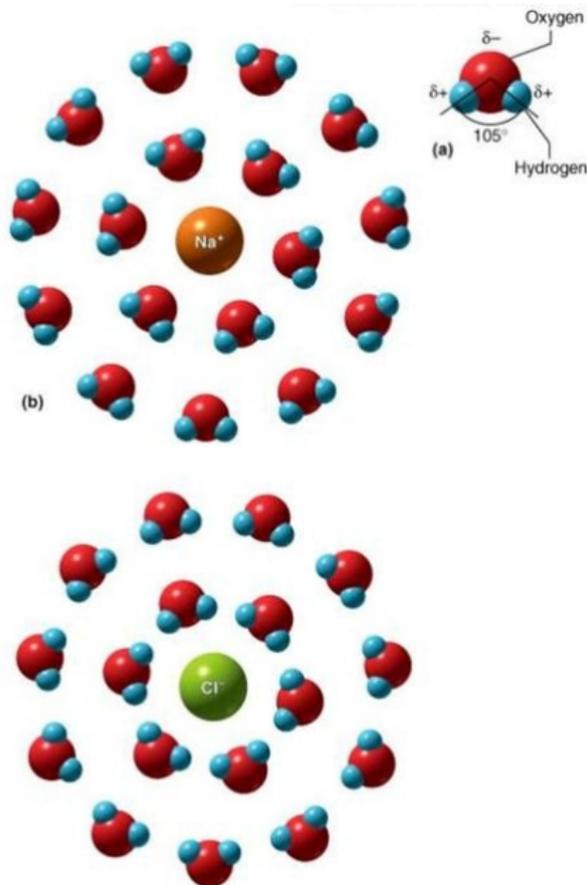
- Tamaño
- Energías de enlace
- Capas de hidratación



Propiedades básicas: ¿Cómo son selectivos?

Los iones varían en varios aspectos:

- Tamaño
- Energías de enlace
- Capas de hidratación

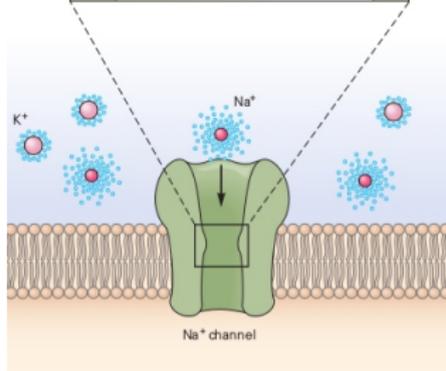
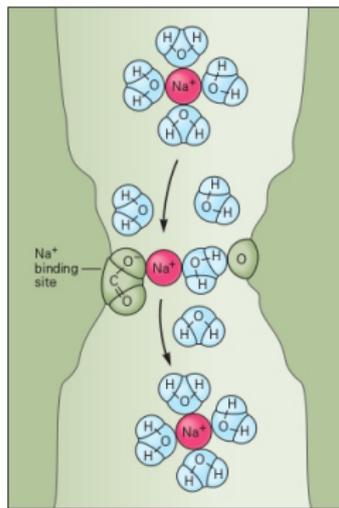


Propiedades básicas: ¿Cómo son selectivos?

La estructura del canal iónico se ajusta más a unos iones que a otros.

Ej. Hipótesis de selectividad de Na^+ :

- El canal favorece la pérdida de la capa de hidratación externa
- Disposición de cargas hacen al catión pasar en una posición específica
- El ión K^+ no puede pasar en esa posición por su tamaño

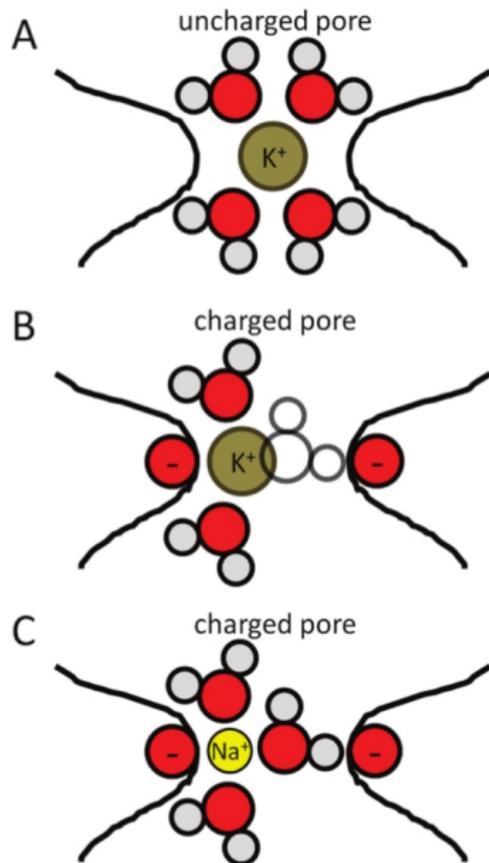


Propiedades básicas: ¿Cómo son selectivos?

La estructura del canal iónico se ajusta más a unos iones que a otros.

Ej. Hipótesis de selectividad de Na^+ :

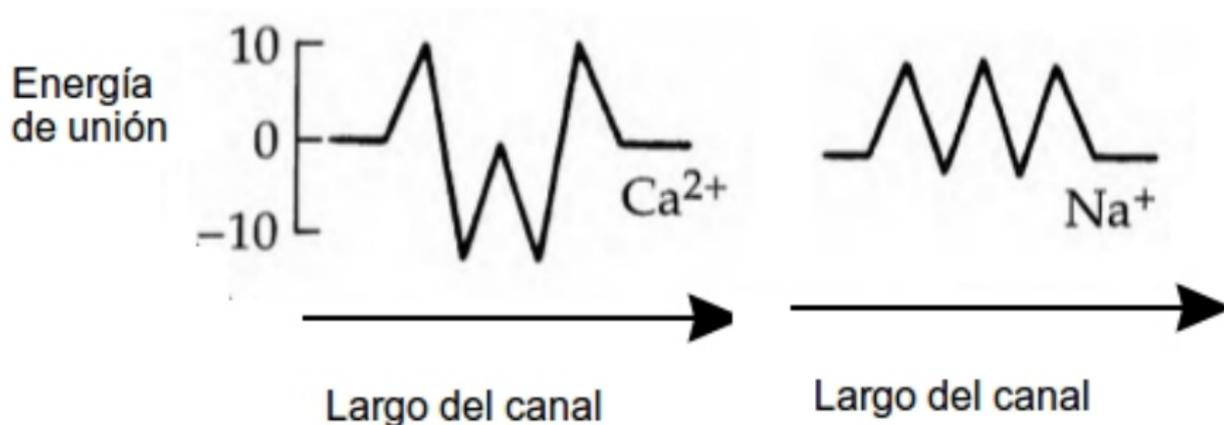
- El canal favorece la pérdida de la capa de hidratación externa
- Disposición de cargas hacen al catión pasar en una posición específica
- El ión K^+ no puede pasar en esa posición por su tamaño



Propiedades básicas: ¿Cómo son selectivos?

Hay selectividades más complejas. Ejemplo Ca^{2+} :

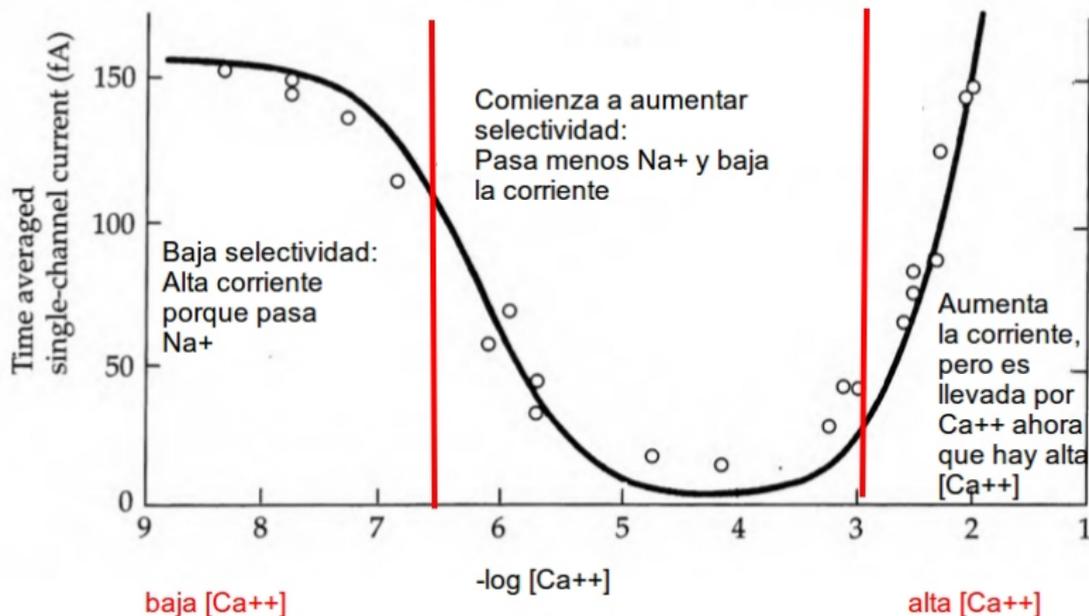
- Na^+ es muy abundante
- Na^+ y Ca^{2+} tienen tamaño similar
- Un canal de Ca^{2+} tiene gran afinidad y dos sitios de unión
- Para salir del canal, un Ca^{2+} necesita que otro Ca^{2+} lo 'empuje' de atrás, por la gran afinidad
- El Na^+ no puede empujarlo, así que no pasa



Propiedades básicas: ¿Cómo son selectivos?

Hay selectividades más complejas. Ejemplo Ca^{2+} :

- Esto hace que la selectividad sea función de la concentración de Ca^{2+} :

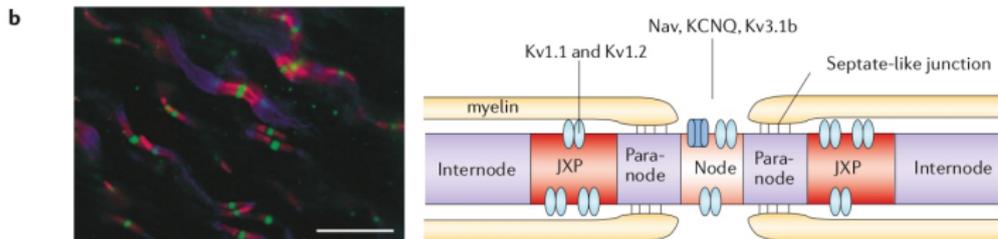
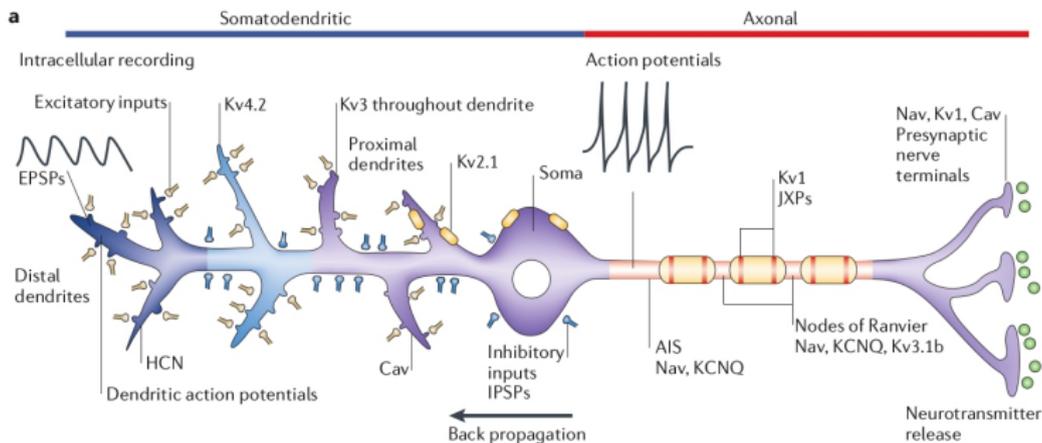


Varias propiedades los caracterizan:

- Selectividad iónica
- Localización celular
- Pasivos o activos
- Estímulos que los abren
- Dinámica y dependencia del voltaje de su apertura, cierre, e inactivación
- Suceptibilidad a diferentes agentes químicos
- Otras

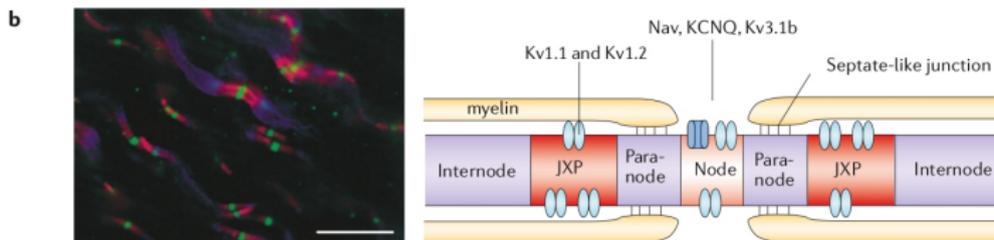
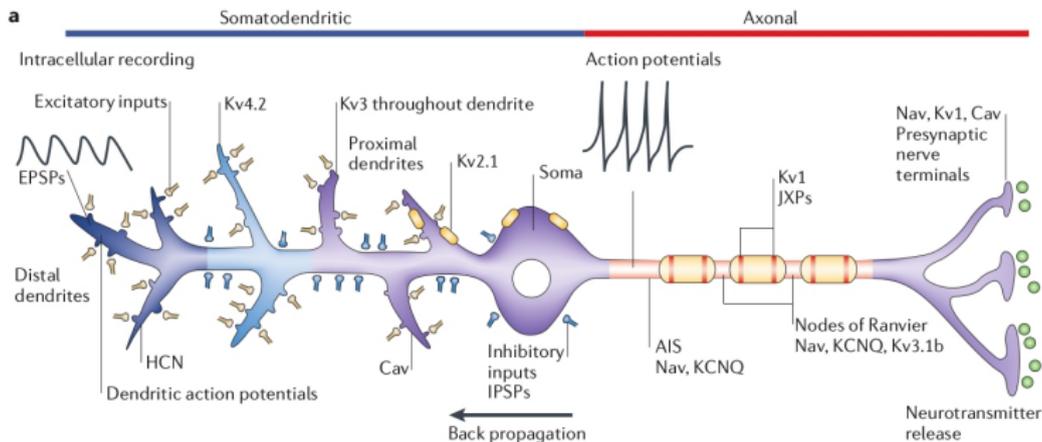
Propiedades básicas: Localización

Los canales se ubican en regiones específicas, en relación con su función



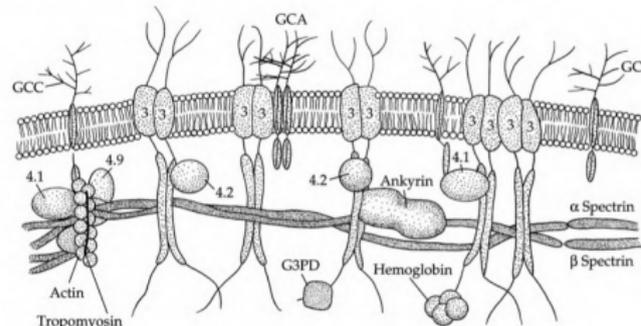
Propiedades básicas: Localización

Ej. canales que transmiten el PA se ubican en el axón, canales que reciben señales de otras neuronas están en la sinápsis, etc

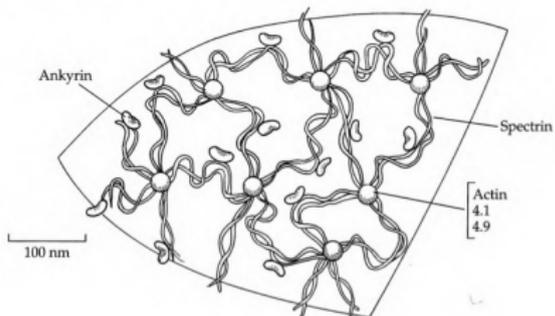


Propiedades básicas: Localización

Varios mecanismos biofísicos generan la distribución de los canales. Lo importante es que la función depende de la localización.



(B) FACE VIEW



Varias propiedades los caracterizan:

- Selectividad iónica
- Localización celular
- Pasivos o activos
- Estímulos que los abren
- Dinámica y dependencia del voltaje de su apertura, cierre, e inactivación
- Suceptibilidad a diferentes agentes químicos
- Otras

- Los **canales pasivos** están siempre abiertos, participan de definir el voltaje de reposo pero no producen excitabilidad
- Los **canales activos** tienen la capacidad de abrirse y cerrarse. Participan en los fenómenos de excitación y transmisión.

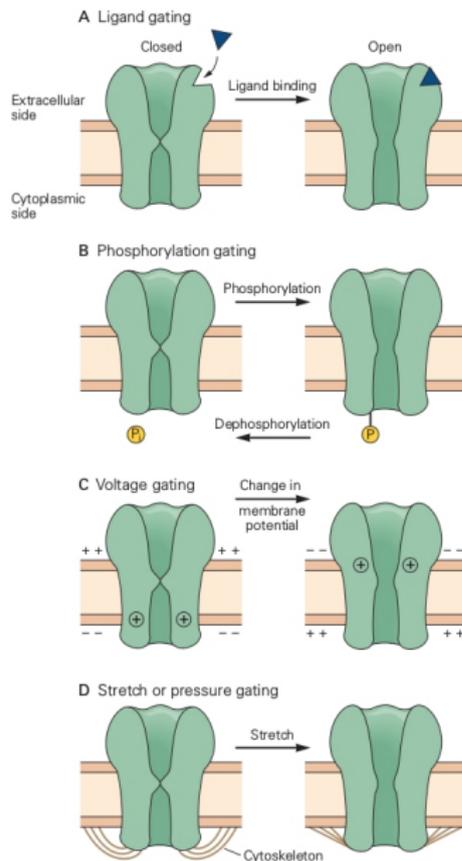
Propiedades básicas: Señales de apertura

Los canales activos pueden clasificarse según la señal que controle su apertura/cierre:

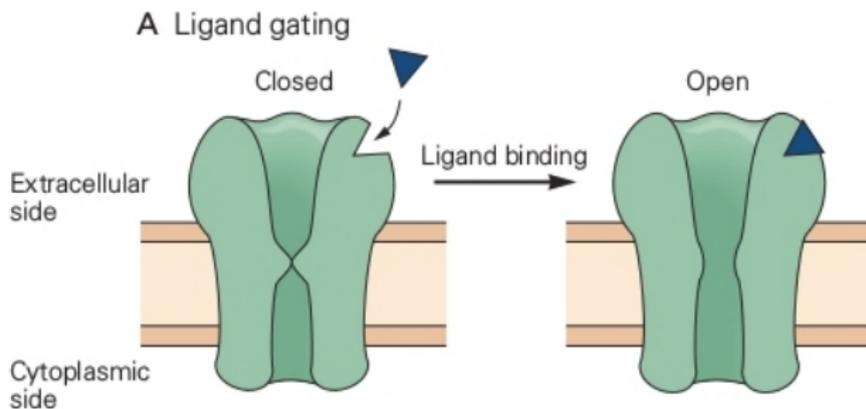
Propiedades básicas: Señales de apertura

Los canales activos pueden clasificarse según la señal que controle su apertura/cierre:

- Dependiente de ligando
- Dependiente de voltaje
- Dependiente de fosforilación
- Apertura mecánica
- Dependiente de pH



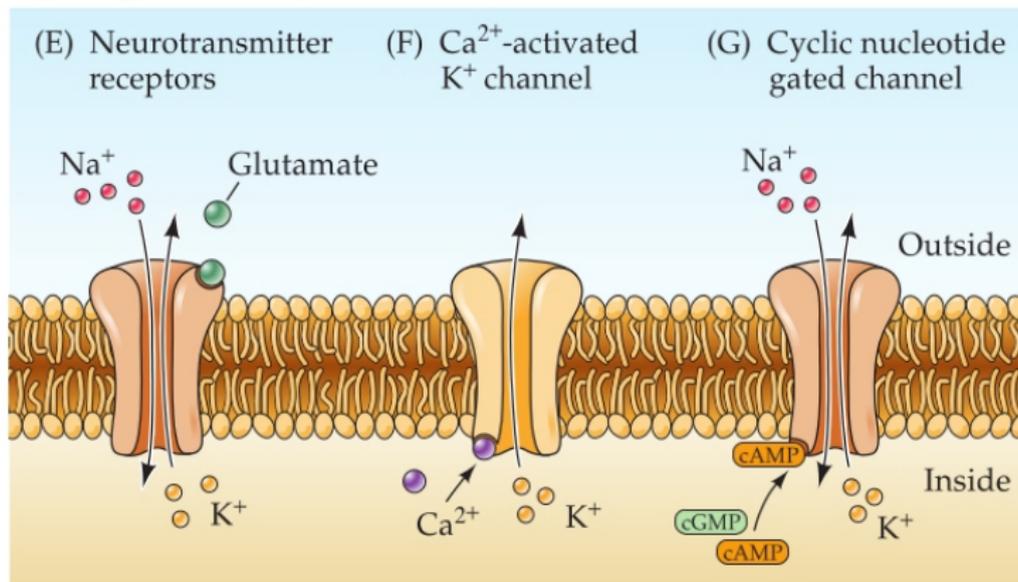
Canales dependientes de ligando: Cuando una molécula adecuada (ligando) se une al sitio de unión, cambia su estado abierto/cerrado



Propiedades básicas: Canales dependientes de ligando

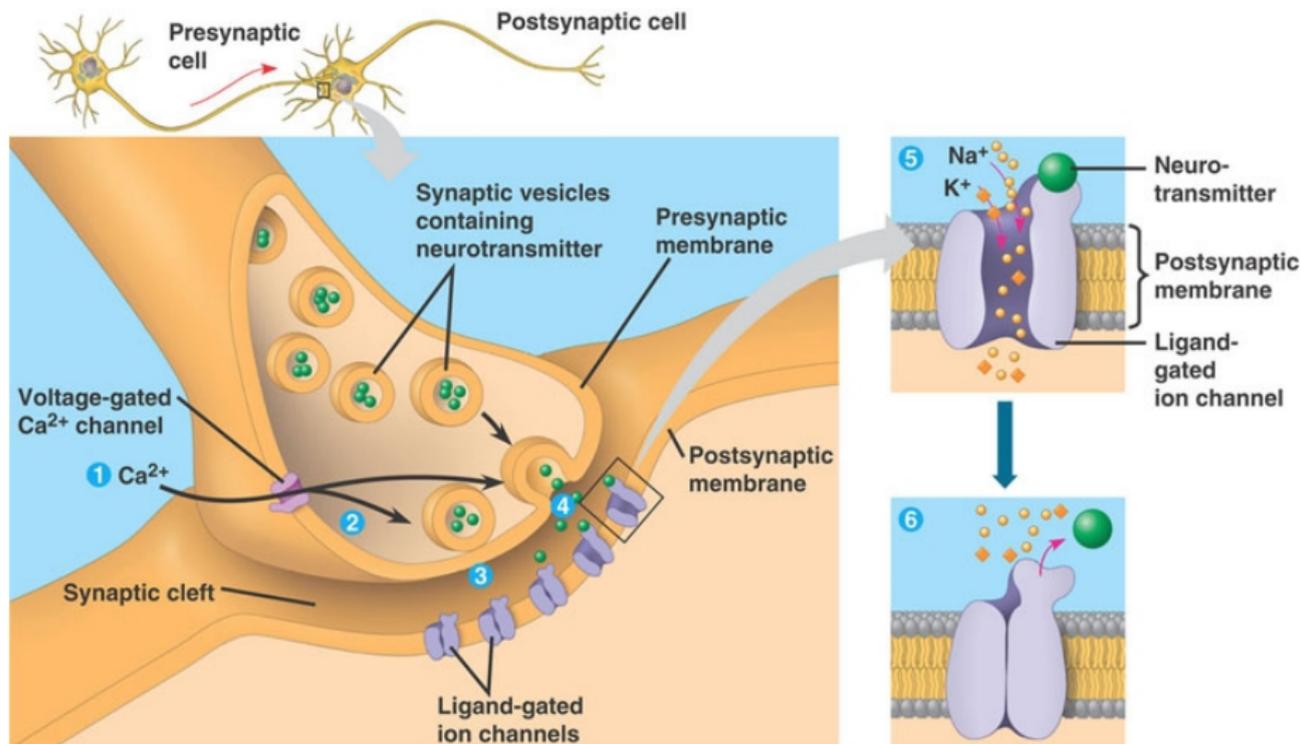
El ligando puede ser intracelular (ej. señales bioquímicas de la célula), o extracelular (ej. neurotransmisor)

Ligand-gated channels



Propiedades básicas: Canales dependientes de ligando

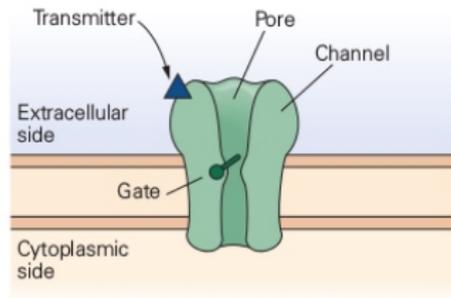
Las **sinápsis químicas** usan canales dependientes de ligando



Propiedades básicas: Canales dependientes de ligando

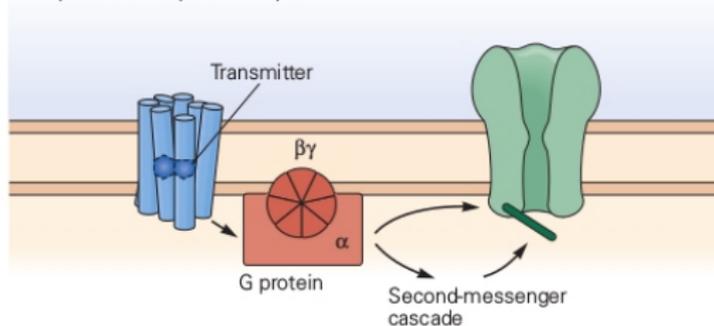
Pueden ser ligando extracelular (une directamente al NT) o intracelular (NT se une a receptor que activa cascada bioquímica)

A Direct gating



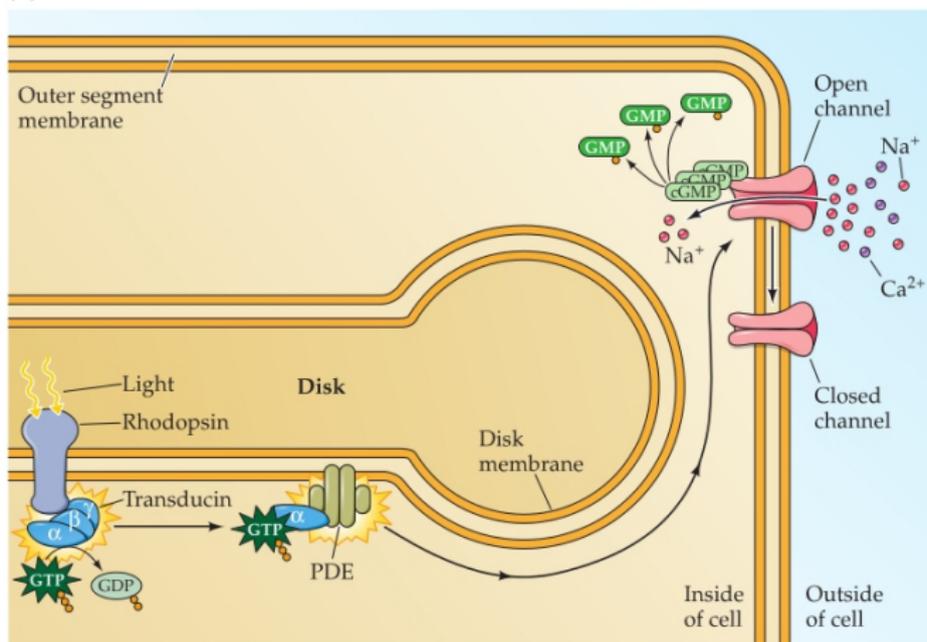
B Indirect gating

1 G protein-coupled receptor



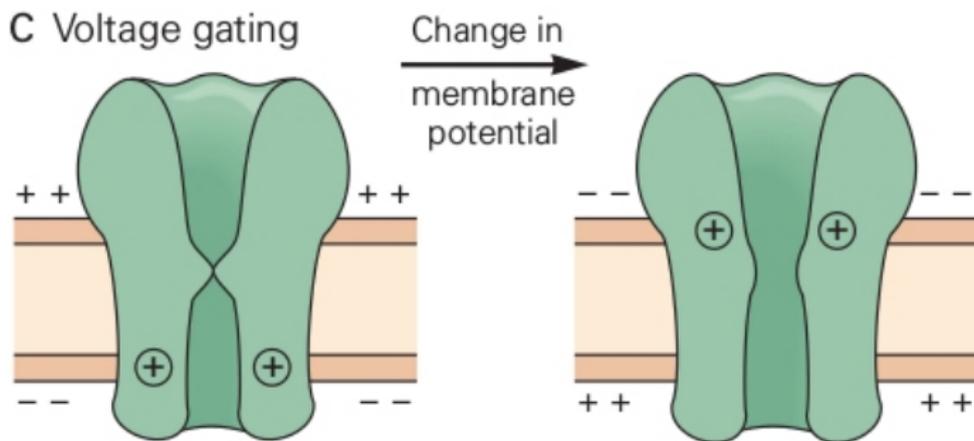
Propiedades básicas: Canales dependientes de ligando

Canales dependientes de ligando permiten a la célula modificar su excitabilidad. También participan en la fototransducción (diagrama abajo) y otros procesos



Propiedades básicas: Canales dependientes de voltaje

Canales dependientes de voltaje: Tienen cargas que se mueven ante cambios en el voltaje de la membrana, abriendo el canal

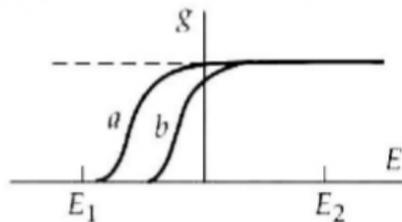


- Los canales dependientes de voltaje son esenciales en la **generación del PA** y en la **transmisión** del mismo
- También participan de otros procesos (ej. la **liberación de neurotransmisor** en la terminal presináptica mediada por Ca^{2+})

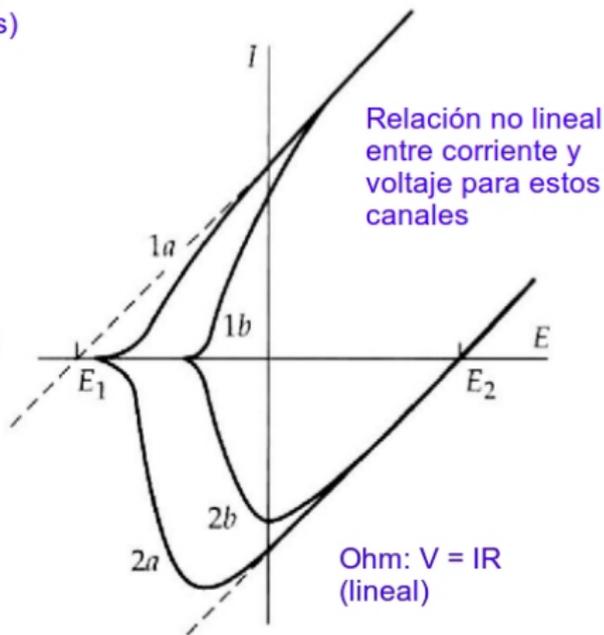
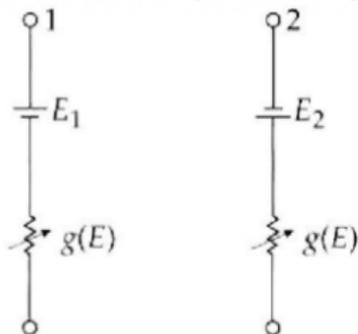
Propiedades básicas: Canales dependientes de voltaje

El **voltaje de apertura** y el **potencial de reversión** de los canales determinan su efecto sobre el V_m de la célula

(D) Dependencia conductancia-voltaje
(a y b son diferentes dependencias)



Dos iones distintos con distintos potenciales de equilibrio, E_1 y E_2

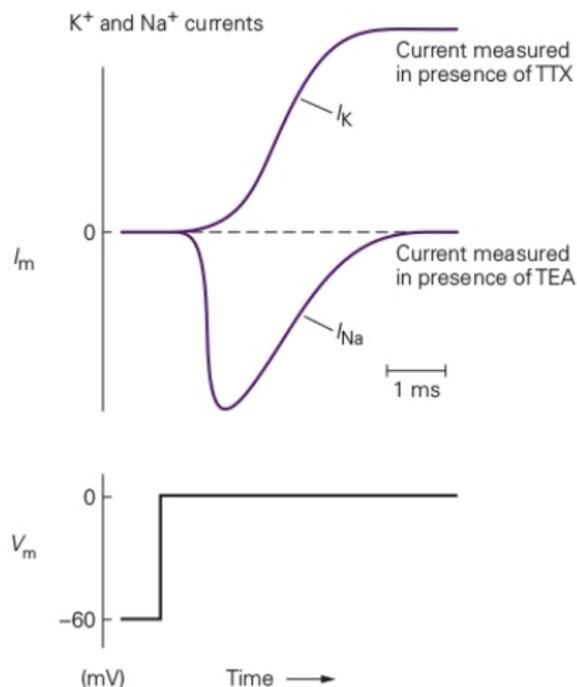


Varias propiedades los caracterizan:

- Selectividad iónica
- Localización celular
- Pasivos o activos
- Estímulos que los abren
- Dinámica y dependencia del voltaje de su apertura, cierre, e inactivación
- Suceptibilidad a diferentes agentes químicos
- Otras

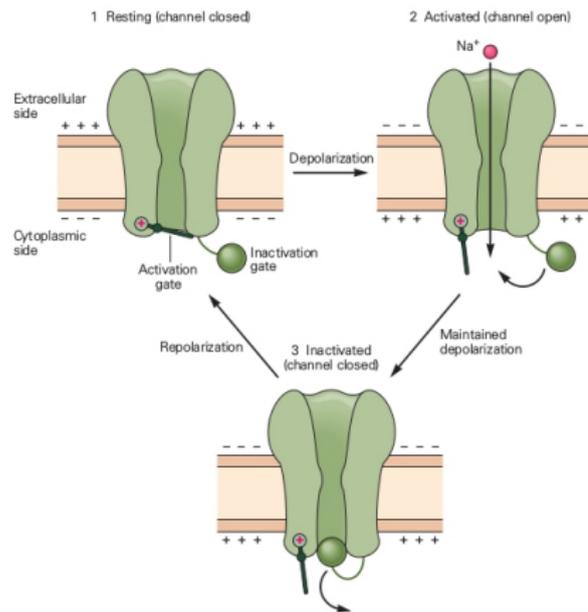
Propiedades básicas: Dinámica de apertura/cierre e inactivación

- La velocidad con que se abre y cierra un canal, así como su capacidad de inactivarse, son propiedades importantes
- Ej: en el modelo de HH los canales de Na^+ se abren cierran rápido y los de K^+ lo hacen más lento



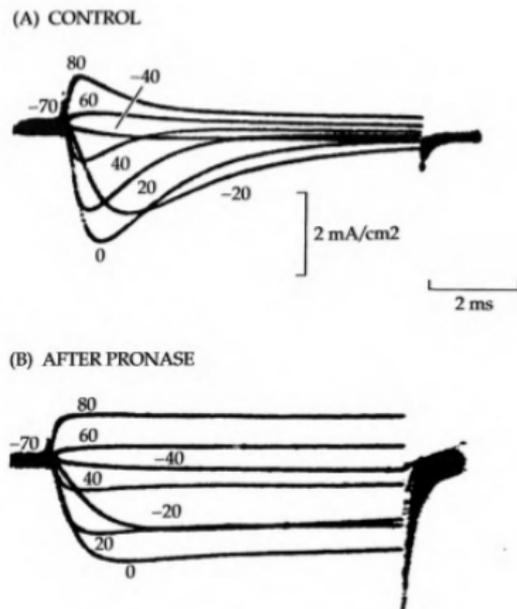
Propiedades básicas: Dinámica de apertura/cierre e inactivación

- Algunos canales además se inactivan
- Mecanismo clásico de inactivación es el de la 'bola encadenada': Un dominio proteico unido al canal (la bola) pueden unirse y tapan la entrada del canal
- Así aunque esté abierto no pasa corriente
- Con la proteinasa pronasa se corta la cadena: desaparece la inactivación en canal de Na^+



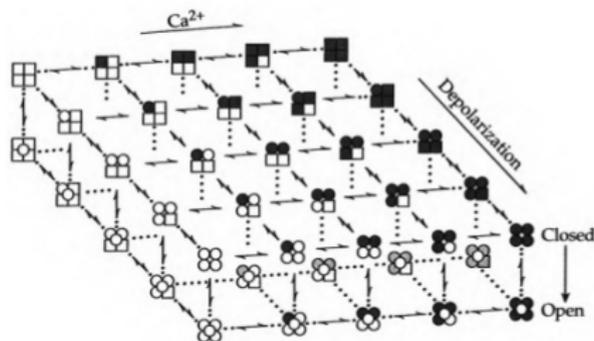
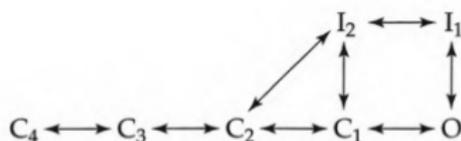
Propiedades básicas: Dinámica de apertura/cierre e inactivación

- Algunos canales además se inactivan
- Mecanismo clásico de inactivación es el de la 'bola encadenada': Un dominio proteico unido al canal (la bola) pueden unirse y tapar la entrada del canal
- Así aunque esté abierto no pasa corriente
- Con la proteinasa pronasa se corta la cadena: desaparece la inactivación en canal de Na^+



Propiedades básicas: Dinámica de apertura/cierre e inactivación

Aunque los aproximamos con modelos simples, los canales pueden tener dinámicas muy complejas con muchos estados distintos.

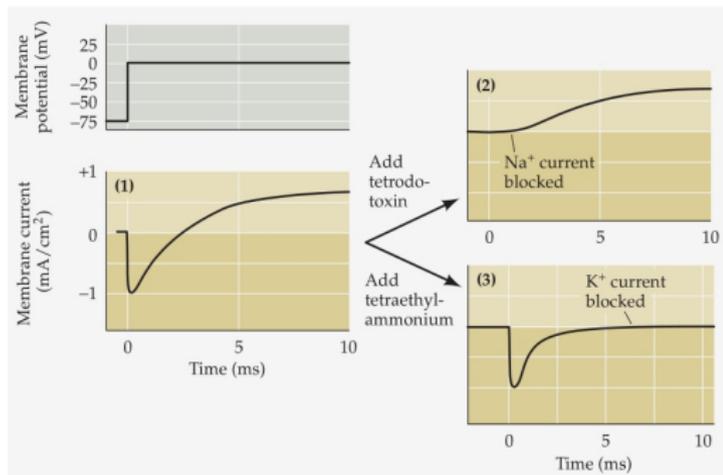


Varias propiedades los caracterizan:

- Selectividad iónica
- Localización celular
- Pasivos o activos
- Estímulos que los abren
- Dinámica y dependencia del voltaje de su apertura, cierre, e inactivación
- **Suceptibilidad a diferentes agentes químicos**
- Otras

Propiedades básicas: Suceptibilidad a inhibidores

- Hay fármacos que inhiben canales específicos
- Son herramientas para el estudio de los canales: permiten separar e identificar sus corrientes
- Los clásicos son la tetrodotoxina, TTX, (proveniente de peces globo), que inhibe canales de Na^+ HH, y el tetraetilamonio (TEA) que bloquea los de K^+ de HH

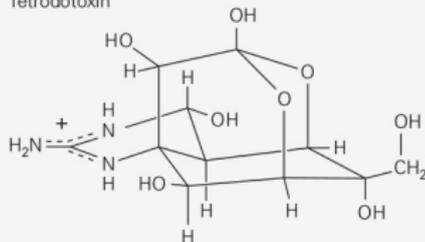


Propiedades básicas: Suceptibilidad a inhibidores

- Hay fármacos que inhiben canales específicos
- Son herramientas para el estudio de los canales: permiten separar e identificar sus corrientes
- Los clásicos son la tetrodotoxina, TTX, (proveniente de peces globo), que inhibe canales de Na^+ HH, y el tetraetilamonio (TEA) que bloquea los de K^+ de HH

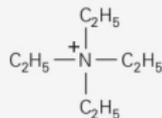
A Na^+ channel blockers

Tetrodotoxin



B K^+ channel blockers

Tetraethylammonium



Propiedades básicas: Suceptibilidad a inhibidores

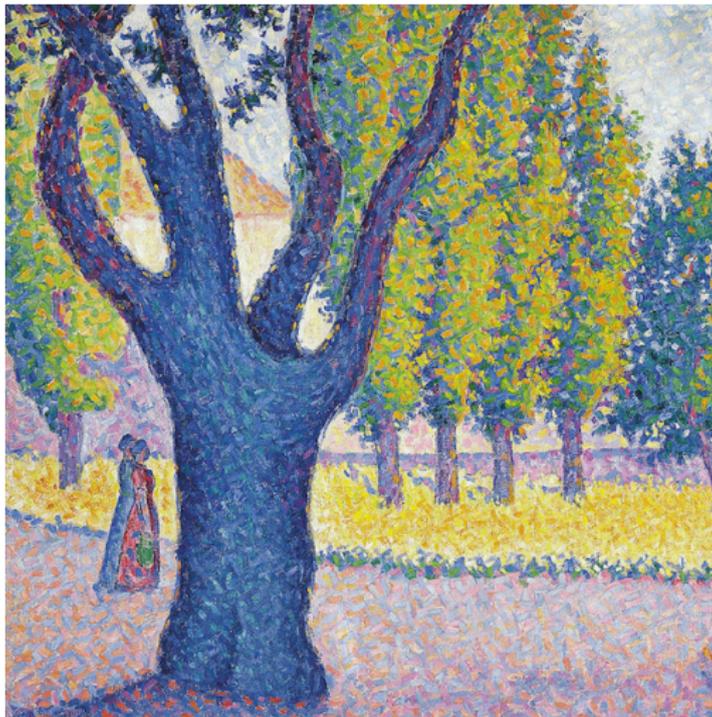
Los diferentes canales con selectividad para el mismo ion pueden tener diferentes inhibidores (ej. no todos los de K^+ se ven inhibidos por el TEA), lo que se usa para identificarlos

Table 7.1 Voltage-gated ionic currents in cortical neurons

Current	Symbol	Ion	V_{th}	Inactivation	Blocked by	Modulation	Function
<i>1. Voltage-gated (depolarization)</i>							
Na⁺ currents							
Fast	$I_{Na(fast)}$	Na ⁺	-50	Fast	TTX		spike
Slow	$I_{Na(slow)}$	Na ⁺	-65	Slow	TTX		prepotential
Ca²⁺ currents							
High-threshold	$I_{Ca(L)}$	Ca ²⁺	-15	Slow Ca ²⁺ -dep	Cd ²⁺ DHP	NE (+) ACh (-)	spike
Low-threshold	$I_{Ca(T)}$	Ca ²⁺	-40	Fast V-dep	Ni ²⁺	ACh (+)	burst firing
High-threshold	$I_{Ca(N)}$	Ca ²⁺	-25	Medium V & Ca ²⁺ -dep	Cd ²⁺ ω CTX-GVIA	NE (+,-) Aden. (-) Others (-)	spike (?) presyn. (?)
High-threshold	$I_{Ca(P)}$	Ca ²⁺	-20	Slow	ω Aga-IVA		presyn. (?)
K⁺ currents							
Delayed rectifier	$I_{K(DR)}$	K ⁺	-40	Slow	TEA (10 mM)		spike
Transient	$I_{K(A)}$	K ⁺	-60	Fast	4-AP (> 0.1 mM)	ACh (-)	repolar. delayed
Delay current	$I_{K(D)}$	K ⁺	-75	Slow	4-AP (< 0.1 mM)	DTX	firing, spike repolar.
M current	$I_{K(M)}$	K ⁺	-65	None	Ba ²⁺	ACh (-) 5-HT (-) Somato. (+)	spike train accommod. mAHP
<i>2. Voltage-gated (hyperpolarization)</i>							
Slow inward rectifier	I_Q, I_h, I_f	Na + K	-60	None	Cs ⁺ , THA		rest V_m
Fast inward rectifier	$I_{K(IR)}$	K ⁺	-80	Slow	Cs ⁺ , Ba ²⁺	G_o (+)	
Time-depend. Cl ⁻ currents	$I_{Cl(V)}$	Cl ⁻	-20	None	Cd ²⁺	PBs	dendrites (?)
		Cl ⁻	-60	None	Cd ²⁺		

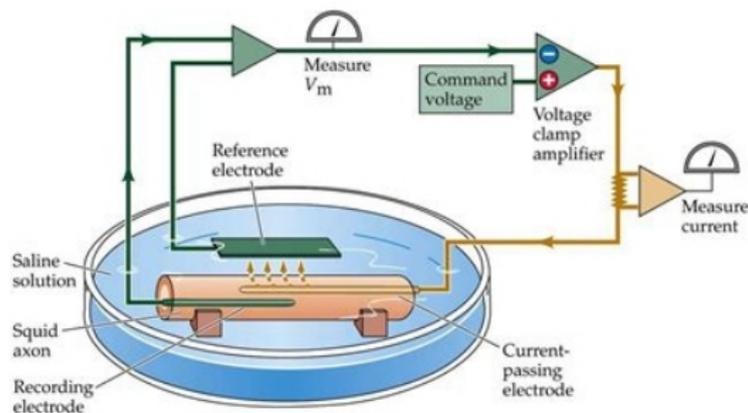
Propiedades básicas: Comportamiento micro vs macro

Relación micro-macro en los canales y las corrientes



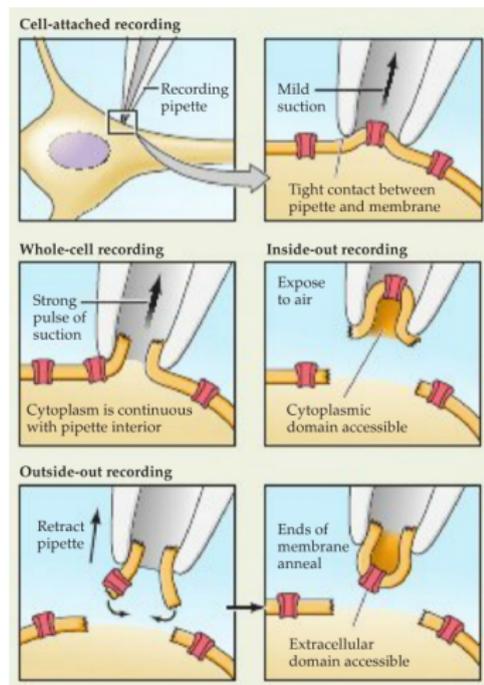
Patch clamp:

- Las técnicas usadas por HH permitían estudiar corrientes a nivel macroscópico, formadas por millones de canales individuales
- En 1976 Neher y Sakmann (Nobel en 1991) desarrollaron la técnica patch-clamp, que permite estudiar canales aislados
- Es una de las principales herramientas para el estudio de los canales iónicos



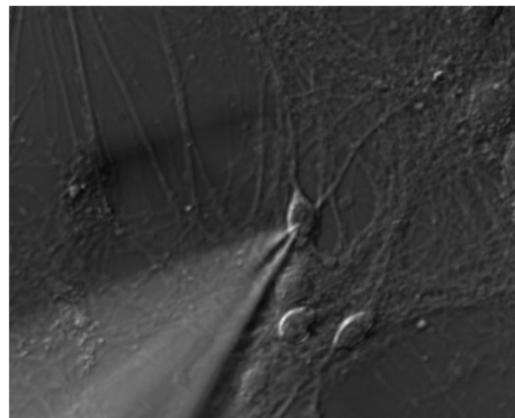
Técnica de patch-clamp:

- Se acerca una pipeta de vidrio a la célula
- Se sella el contacto con succión
- Se pueden obtener diferentes configuraciones finales (ver la imagen):
 - Cell-attached
 - Inside-out
 - Outside-out
 - Whole-cell (no permite medir canales individuales)
- Permite medir corriente a través de canales aislados



Técnica de patch-clamp:

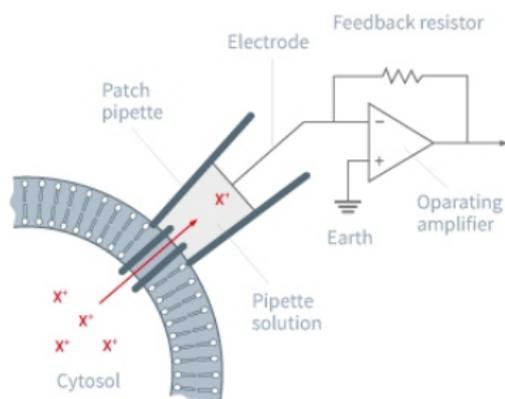
- Se acerca una pipeta de vidrio a la célula
- Se sella el contacto con succión
- Se pueden obtener diferentes configuraciones finales (ver la imagen):
 - Cell-attached
 - Inside-out
 - Outside-out
 - Whole-cell (no permite medir canales individuales)
- Permite medir corriente a través de canales aislados



Propiedades básicas: Comportamiento micro vs macro

Funciona como el mecanismo para medir corrientes macroscópicas:

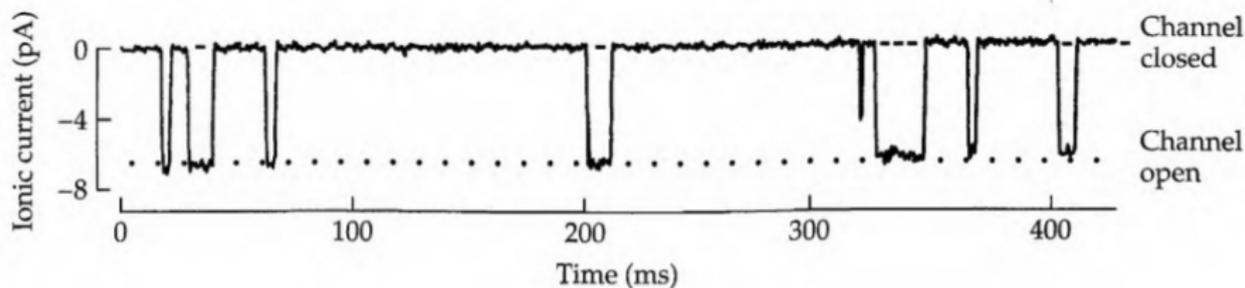
- Se mide el potencial de membrana con dos electrodos
- Puede inyectarse corriente con el electrodo de la pipeta, lo que permite hacer clampeos de voltaje y de corriente
- Se pueden agregar sustancias dentro y fuera de la pipeta (ej. alterar concentraciones iónicas, utilizar inhibidores)



Propiedades básicas: Comportamiento micro vs macro

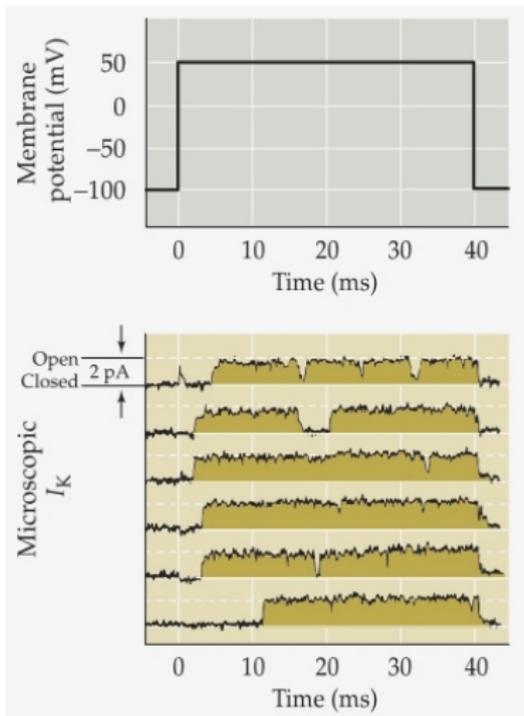
Registros de canales aislados:

- Suelen verse canal abiertos o cerrados, sin intermedios
- Se ve un comportamiento estocástico, pasa de abierto a cerrado de forma aleatoria.



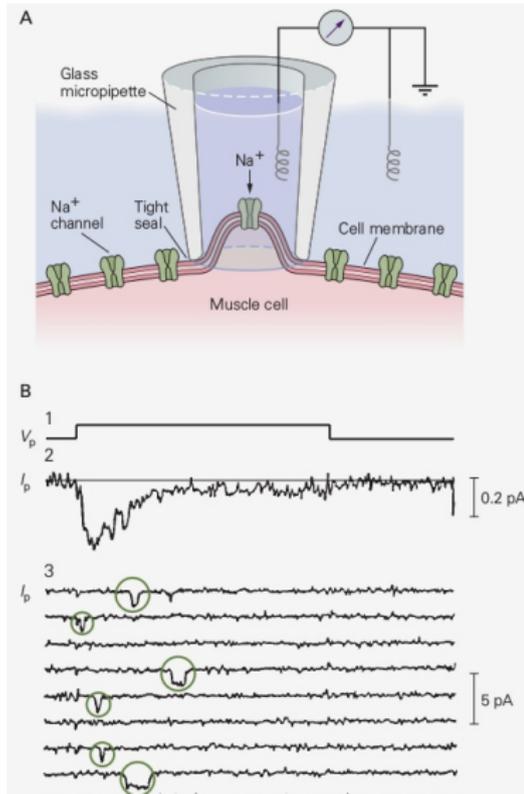
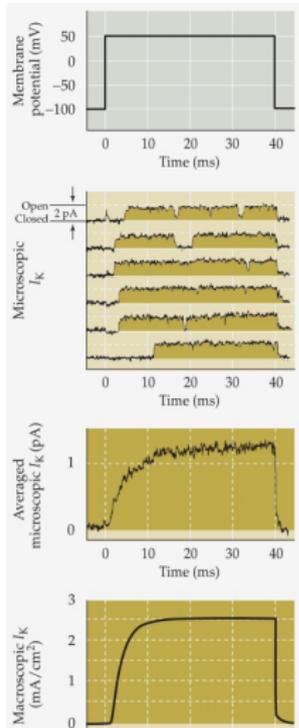
Propiedades básicas: Comportamiento micro vs macro

En los canales individuales, la dependencia del voltaje se ve en las **probabilidades** de estar abierto o cerrado, pero un canal determinado puede fluctuar



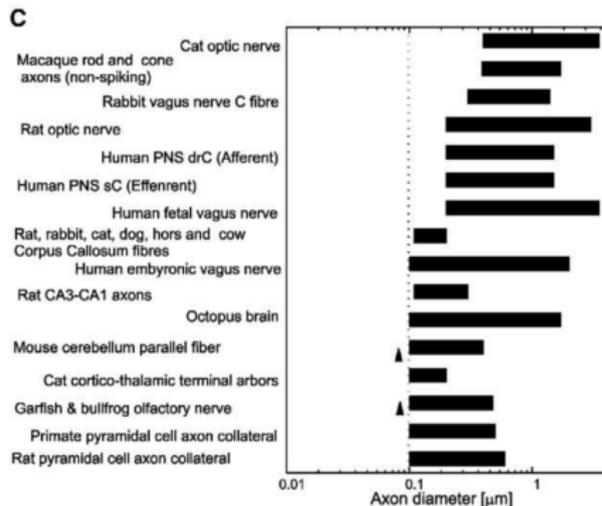
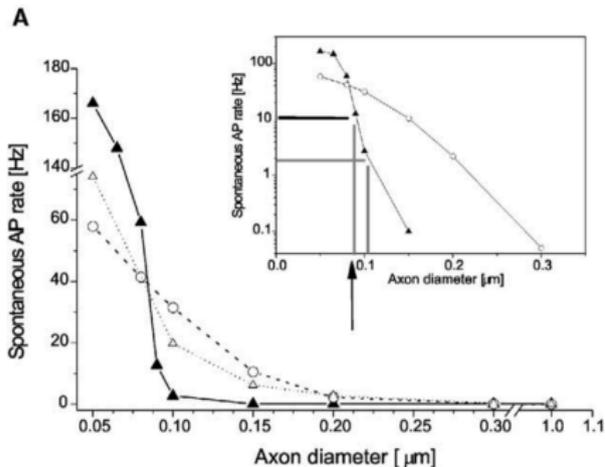
Propiedades básicas: Comportamiento micro vs macro

Si medimos varios canales, o un canal varias veces, el promedio de las corrientes se parece a la respuesta macroscópica



Propiedades básicas: Comportamiento micro vs macro

Las fluctuaciones de los canales pueden generar 'ruido'. Se propone que el ruido de estas fluctuaciones es lo que limita el diámetro mínimo de los axones.



A.A.Faisal et al. (2005), Current Biology

Diversidad de canales dependientes de voltaje

Variedad de corrientes iónicas y sus efectos en la célula



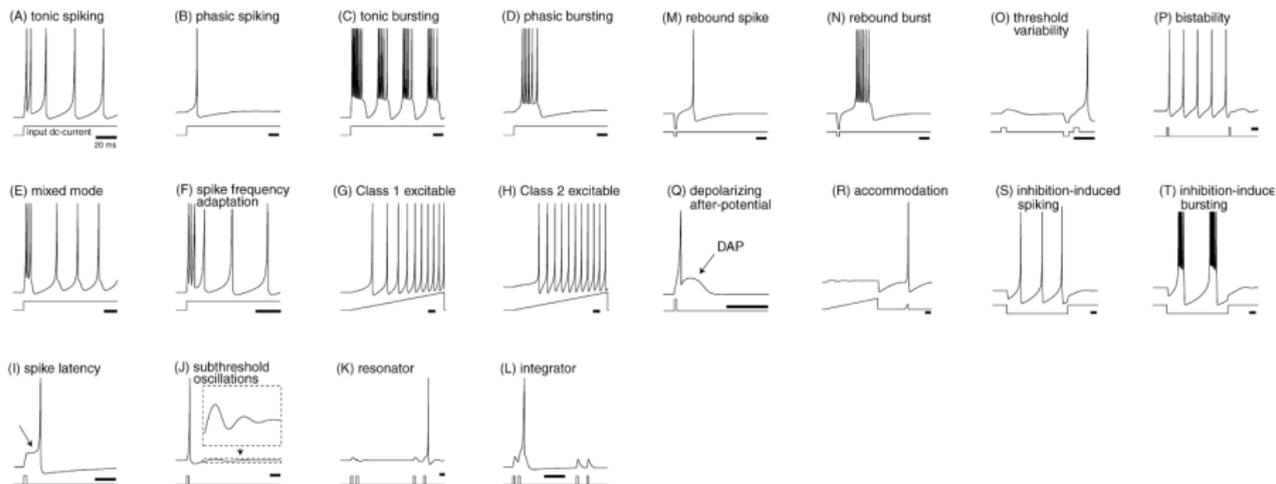
Joaquín Lalanne

Diversidad de canales dependientes de voltaje

Hay una gran diversidad de canales. Veremos algunos de ellos para tener noción de cómo pueden afectar el funcionamiento de las neuronas

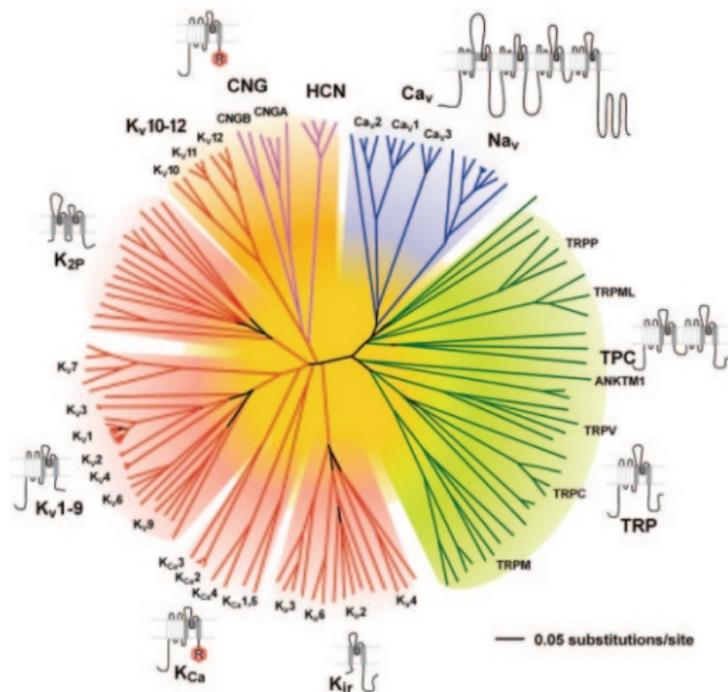
Diversidad de canales dependientes de voltaje

Las neuronas tienen una gran diversidad de comportamientos y funciones. En parte vienen dados por los canales iónicos que poseen



Diversidad de canales dependientes de voltaje

- Los canales se agrupan en familias que suelen compartir una especificidad iónica
- Cada tipo de canal tiene múltiples variantes
- La funcionalidad de muchos canales es desconocida, pero se ha descrito una variedad de diferentes corrientes con algunos posibles roles

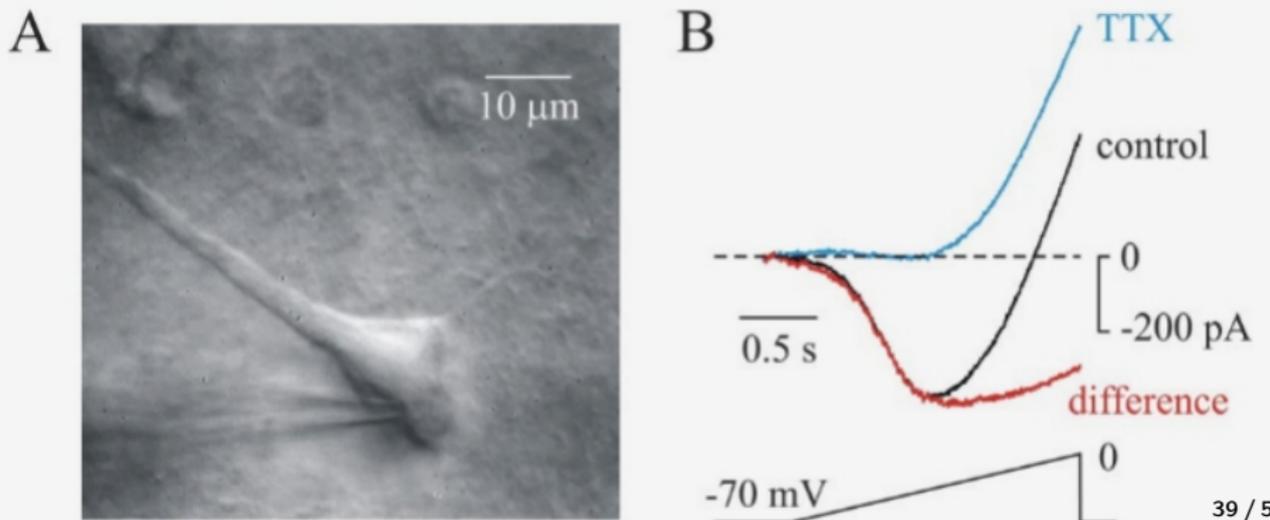


Corrientes de Na^+ :

- Los canales de Na^+ tienen relativamente poca diversidad
- Dos corrientes de Na^+ importantes son:
 - La **corriente de sodio de HH** (que llamamos I_{Na}), con rápida activación y rápida inactivación
 - La **corriente de sodio persistente** (I_{NaP}), que no se inactiva y facilita despolarizaciones sostenidas o actividad rítmica

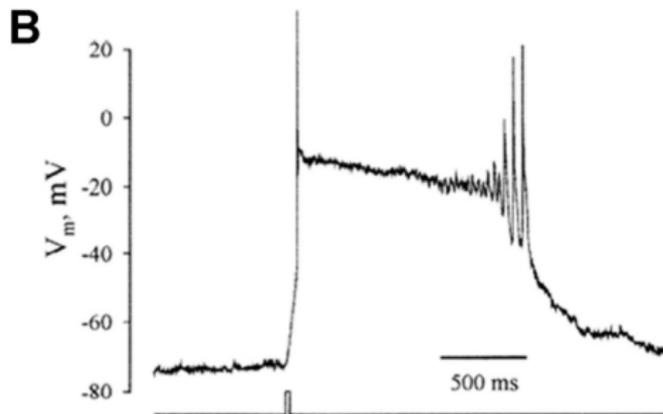
Canales dependientes de voltaje: Corriente I_{NaP}

- I_{NaP} se da en los mismos canales de sodio que corriente de I_{Na} , pero con diferente subunidad β del complejo proteico
- I_{NaP} no se inactiva, a diferencia de corriente I_{Na}
- Es sensible a TTX
- Aplicando rampa lenta de voltaje, I_{Na} se inactiva, y corriente de Na^+ restante es I_{NaP}
- Abajo un experimento con corrientes de K^+ y Ca^{2+} bloqueadas



Canales dependientes de voltaje: Corriente I_{NaP}

- Como I_{NaP} no se inactiva, mantiene una corriente entrante luego de un PA
- A la derecha experimento en que se dispara un PA en una célula con I_{NaP} (con canales de K^+ bloqueados)
- Puede facilitar un próximo PA, promoviendo los disparos rítmicos
- I_{NaP} también se activa a potenciales 10 mV más negativos que I_{Na} . A veces se encuentra en las dendritas y puede ayudar a amplificar pequeños potenciales dendríticos



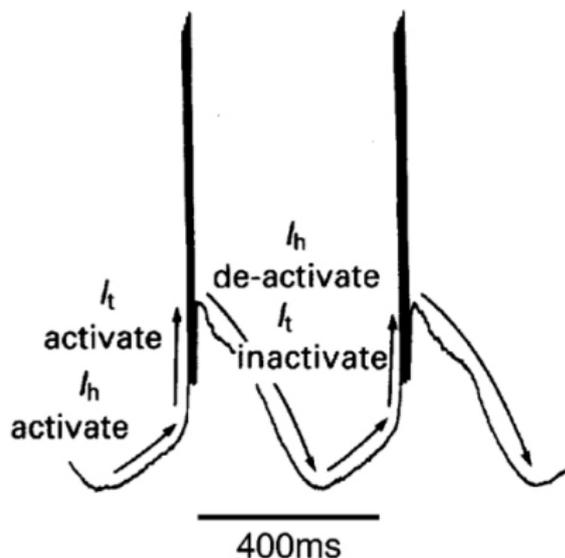
- Diversas líneas de evidencia sugieren que el exceso de corriente I_{NaP} puede ser una de las causas de la epilepsia (ej. estudios genéticos, ratones con canales de sodio que producen más I_{NaP} , estudios fisiológicos de cerebros de epilépticos, etc) (M. Mategazza et al (2010) Lancet Neurol)
- Se propone que el efecto de algunos antiepilepticos (ej. Fenitoína) que inhiben los canales de sodio se deben en parte al bloqueo de I_{NaP}

Corriente catiónica hiperpolarizada, I_h :

- I_h existe en muchos tipos celulares (sus canales se llaman HCN)
- Permeabilidad similar para Na^+ y K^+ . Su potencial de reversión es -20 mV (la I_h lleva al V_m a este punto)
- Se abren a potenciales hiperpolarizados (por eso el nombre)
- Cinética relativamente lenta
- No se inactivan

Canales dependientes de voltaje: Corriente I_h

- Canales HCN se abren en hiperpolarización (ej. después de un PA)
- Comienzan a despolarizar a la célula
- Por su cinética lenta, siguen abiertos aunque suba el V_m
- Participan de varios procesos: rebote post-inhibición, bursting, actividad marcapasos, estabilización del potencial de reposo, oscilaciones sub-umbral



R. B. Robinson, S. A. Siegelbaum (2003)
Annu Rev Physiol

Canales dependientes de voltaje: Corriente I_h

- Actúa como estabilizador de V_m
- Despolarización (curva azul) cierra I_h . La pérdida de esta corriente positiva contrarresta la despolarización
- Hiperpolarización (curva roja), abre I_h . Mayor corriente positiva contrarresta la hiperpolarización
- Esto, junto con la dinámica lenta se ha relacionado a un efecto de I_h sobre la integración temporal (a mayor I_h , menor la ventana temporal)

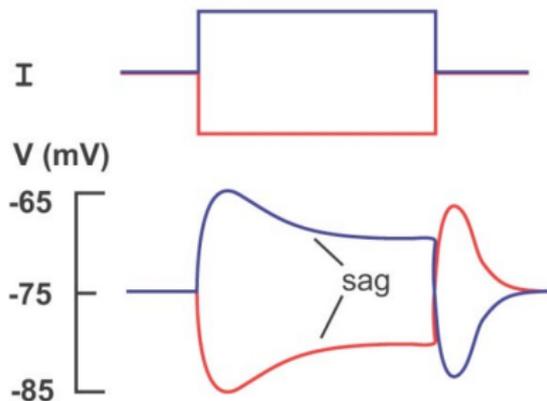
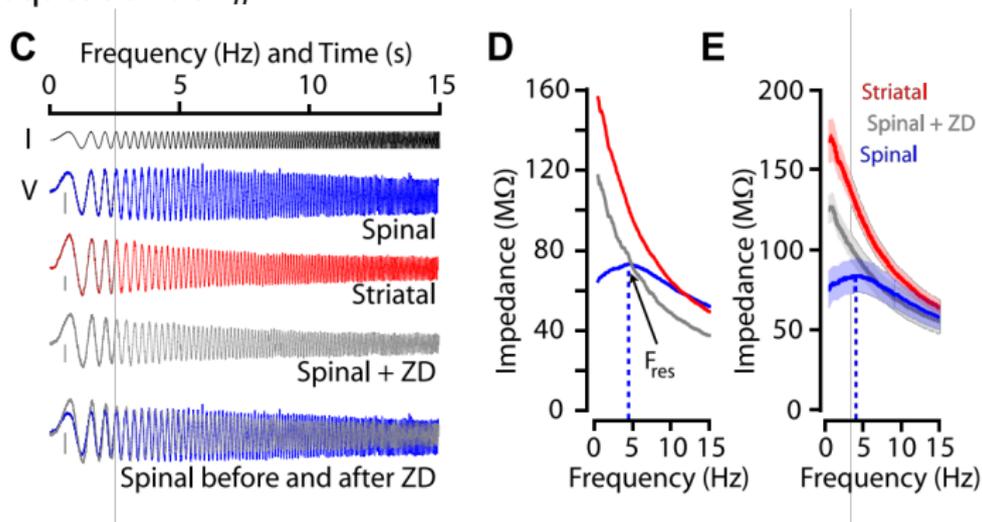


Figure 1 I_h and its role in stabilizing the resting potential. (A) Voltage-clamp experi-

Canales dependientes de voltaje: Corriente I_h

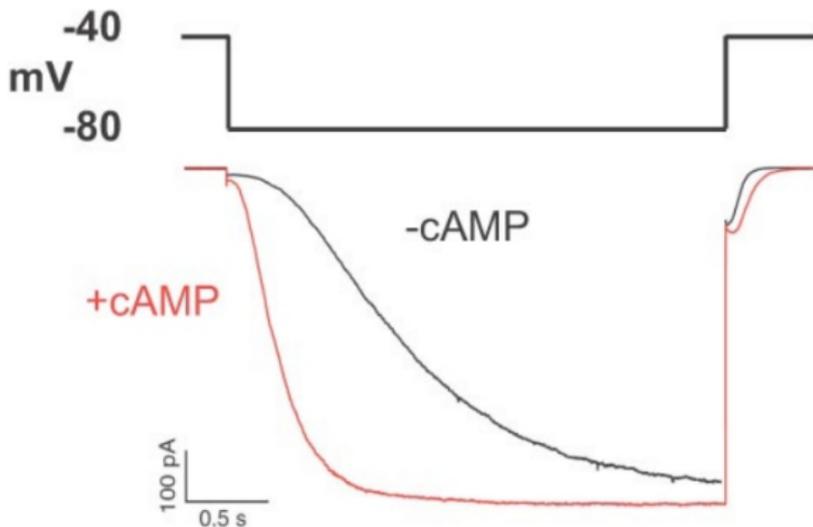
La capacidad estabilizadora de membrana de I_h puede darle a la célula especificidad para responder a ciertas frecuencias (i.e. neurona resonadora). Ejemplo. Neurona azul tiene I_h , neurona roja no. Línea gris es neurona con bloqueador de I_h



P.L Sheets et al. (2011), J Neurophysiol

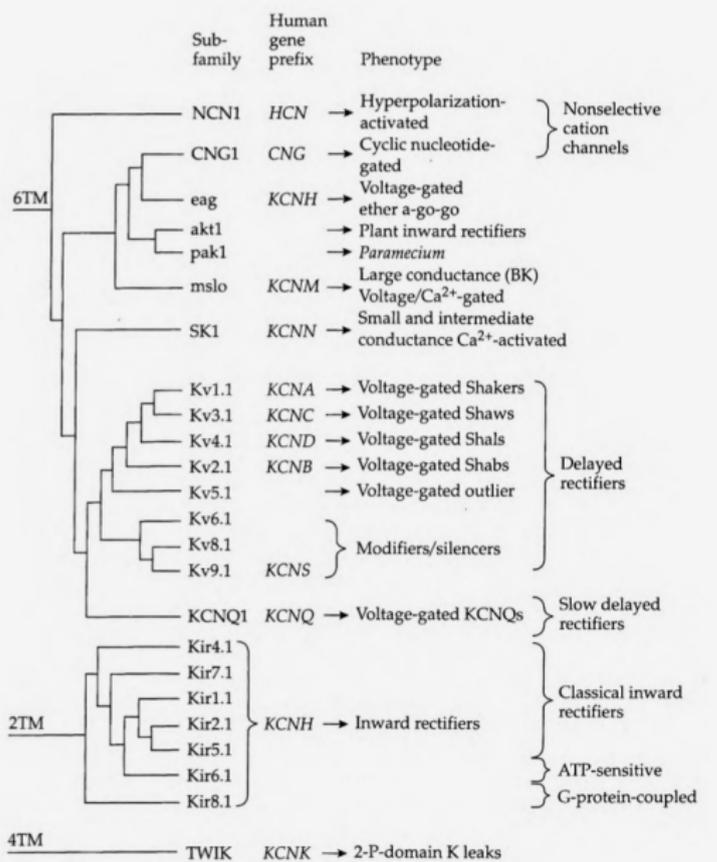
Canales dependientes de voltaje: Corriente I_h

- I_h también responden a ligando: el cAMP hace que se abra a potenciales más altos
- Es una vía para cambiar excitabilidad de la célula mediante señalización
- Se ha propuesto como mecanismo para abrir/cerrar comunicación entre áreas (P.L. Sheets (2011), J Neurophysiol)



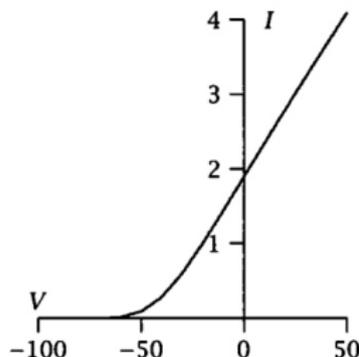
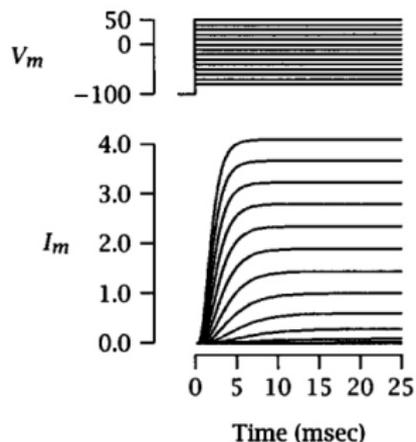
Canales dependientes de voltaje: Canales de K^+

Canales de K^+ tienen una enorme variedad:



Canales dependientes de voltaje: Canales de K^+ de HH

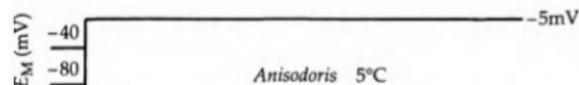
- Los canales de K^+ de HH se llaman *canales rectificadores rápidos con retraso* o $I_{K(DR)}$
- Cumplen la función de mantener el PA corto
- No siempre los PA usan la corriente $I_{K(DR)}$ de HH



Diversidad de canales K: Canales K_A y disminución de frecuencia

Canales de I_{KA} :

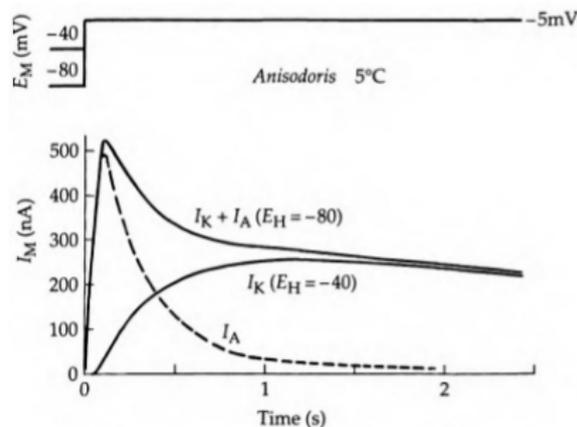
- Son canales de K^+ que están siempre abiertos, pero pueden inactivarse
- Se inactivan a potenciales despolarizados, se activan a potenciales hiperpolarizados (en potencial de reposo están parcialmente inactivados)
- Se los puede distinguir de $I_{K(DR)}$ experimentalmente comparando pulsos con diferente voltaje inicial



Diversidad de canales K: Canales K_A y disminución de frecuencia

Canales de I_{KA} :

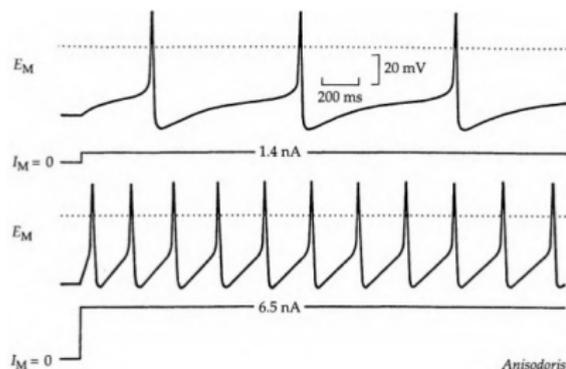
- Son canales de K^+ que están siempre abiertos, pero pueden inactivarse
- Se inactivan a potenciales despolarizados, se activan a potenciales hiperpolarizados (en potencial de reposo están parcialmente inactivados)
- Se los puede distinguir de $I_{K(DR)}$ experimentalmente comparando pulsos con diferente voltaje inicial



Diversidad de canales K: Canales K_A y disminución de frecuencia

Paréntesis:

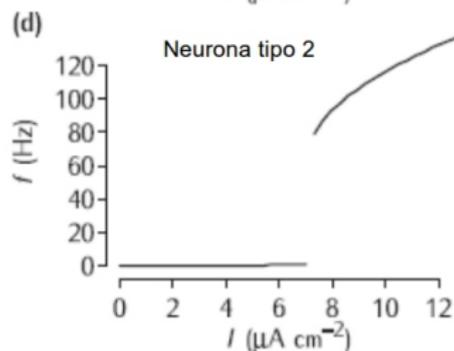
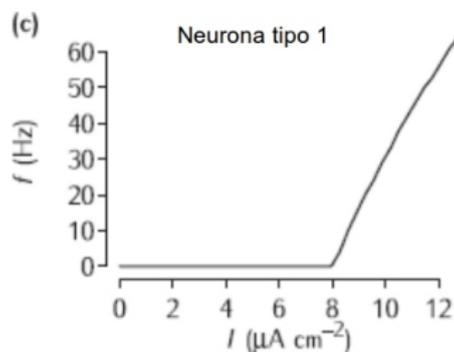
- En general, la frecuencia de disparo depende de la intensidad del estímulo (ejemplo en imagen)
- Según su relación frecuencia vs intensidad las neuronas se clasifican en tipo 1 (aumento gradual) o tipo 2 (aumento repentino)
- Las neuronas de tipo 1 aprovechan más el rango de frecuencias
- A la derecha, ejemplo de simulación en NEURON con mecanismo sólo de HH



Diversidad de canales K: Canales K_A y disminución de frecuencia

Paréntesis:

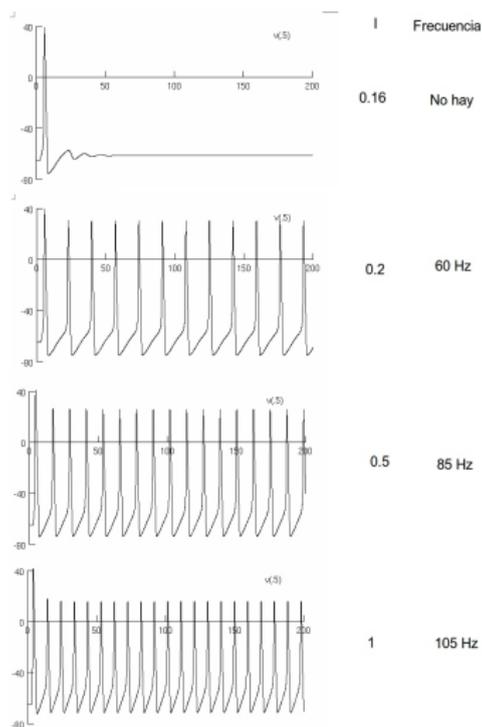
- En general, la frecuencia de disparo depende de la intensidad del estímulo (ejemplo en imagen)
- Según su relación frecuencia vs intensidad las neuronas se clasifican en tipo 1 (aumento gradual) o tipo 2 (aumento repentino)
- Las neuronas de tipo 1 aprovechan más el rango de frecuencias
- A la derecha, ejemplo de simulación en NEURON con mecanismo sólo de HH



Diversidad de canales K: Canales K_A y disminución de frecuencia

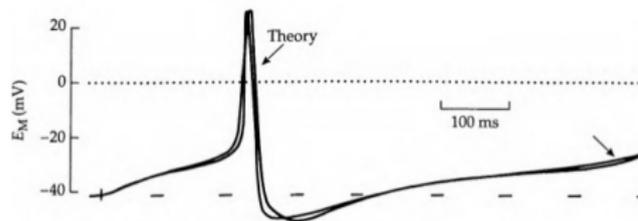
Paréntesis:

- En general, la frecuencia de disparo depende de la intensidad del estímulo (ejemplo en imagen)
- Según su relación frecuencia vs intensidad las neuronas se clasifican en tipo 1 (aumento gradual) o tipo 2 (aumento repentino)
- Las neuronas de tipo 1 aprovechan más el rango de frecuencias
- A la derecha, ejemplo de simulación en NEURON con mecanismo sólo de HH

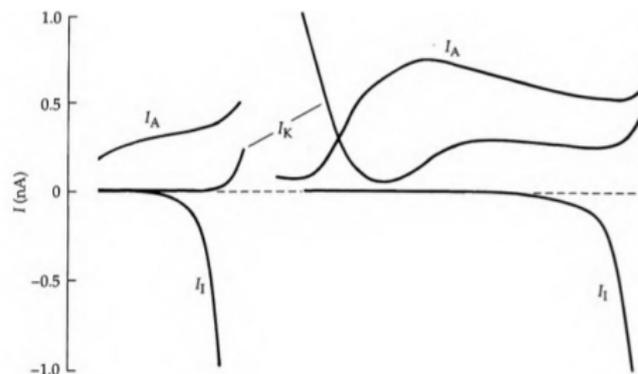


Diversidad de canales K: Canales K_A y disminución de frecuencia

- I_{KA} está parcialmente inactivada en el reposo
- Se activa en hiperpolarización post-PA (I_A en imagen)
- Generan una hiperpolarización prolongada, demorando el próximo PA
- La corriente I_{KA} puede convertir una célula de tipo II en célula tipo I (baja la frecuencia de disparo)



(B) UNDERLYING IONIC CURRENTS



5.6 The Role of I_A in Repetitive Firing Computer calculation of currents a

Diversidad de canales K: Canales K_A y retropropagación del PA

- En los seminarios vimos que en el árbol dendrítico hay retropropagación del PA (Kim et al)
- Vimos que está relacionado al aprendizaje
- Algunos árboles dendríticos tienen I_{KA} que determina la retropropagación
- Luego de que una dendrita recibe potencial excitatorio postsináptico (EPSP), hay despolarización y se inactiva la I_{KA} localmente
- Se ha propuesto que esto sirve para favorecer que PA en las dendritas se retropropague a zonas que fueron estimuladas, sobre las zonas que no lo fueron
- Puede facilitar el aprendizaje, porque la amplitud de la retropropagación depende de la actividad sináptica local

E. Pan (2000) J. Neurophysiology