

# Canals iònics

## un petit tast

Escrit per

**Antonio Felipe**

Laboratori de Fisiologia Molecular  
del Departament de Bioquímica i Biologia Molecular  
de l'Institut de Biomedicina (IBUB) de la Universitat de Barcelona

Els canals iònics són proteïnes que es troben a les membranes cel·lulars. Mitjançant l'obertura d'un porus, condueixen ions i generen una activitat elèctrica que controla el potencial de membrana. La seva activitat és fonamental en la generació del potencial d'acció cardíac o la transmissió nerviosa. A més, intervenen en nombrosos processos biològics tan diversos com l'activació i la proliferació cel·lular, el control del volum cel·lular o la secreció d'insulina. Nombroses patologies estan relacionades amb aquestes proteïnes i s'inclouen dins del terme canalopaties.

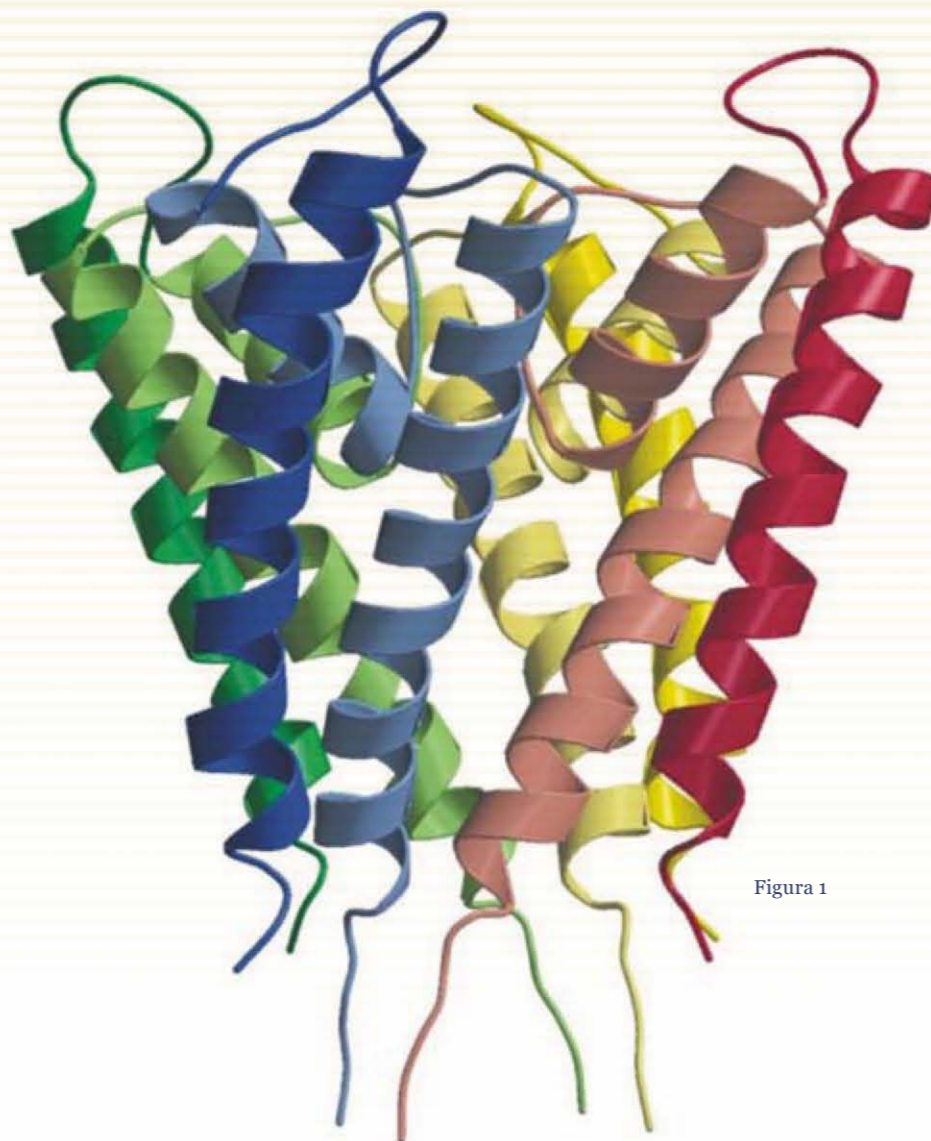


Figura 1

### Importància fisiològica

Voldria començar comentant que poques àrees científiques tan específiques han donat tants premis Nobel: 1963, John C. Eccles, Alan L. Hodgkin i Andrew F. Huxley, fisiologia i medicina, “pels seus descobriments sobre els mecanismes iònics relacionats amb l'excitació i la inhibició de les porcions perifèriques i centrals de la membrana de les cèl·lules del sistema nerviós”; 1991, Erwin Neher i Bert Sakmann, fisiologia i medicina, “pels seus descobriments sobre la funció dels canals iònics en les cèl·lules”; 2003, Peter Agre i Roderick MacKinnon, química, “pels seus descobriments sobre canals en la membrana cel·lular”.

La vida en l'àmbit cel·lular es basa en una lluita constant per mantenir un desequilibri iònic entre la cèl·lula i el seu entorn. La cèl·lula està recoberta d'una membrana lipídica que és impermeable als ions. Aquest desequilibri genera el potencial de membrana. La permeabilitat iònica és deguda als transportadors i als canals iònics. Els primers intervenen en la generació del desequilibri i els canals juguen a favor del gradient electroquímico servint de porus perquè els ions flueixin a través de la membrana. Les diferències entre les concentracions iòniques externes i internes generen un potencial de membrana electronegativa. Els ions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Cl}^-$ , etc.) són càrregues elèctriques, això vol dir que tenim més càrregues negatives dins de la cèl·lula que fora (o més càrregues positives fora que dins de la cèl·lula). La proteïna  $\text{Na}^+-\text{K}^+$  ATPasa manté en desequilibri les concentracions de  $\text{Na}^+$  i de  $\text{K}^+$  generant electronegativitat i gradient. Amb aquest gradient treballen els canals de  $\text{Na}^+$  i de  $\text{K}^+$ , perquè uns entren  $\text{Na}^+$  i d'altres extrauen  $\text{K}^+$ . D'aquesta mateixa manera es poden entendre els moviments d'altres ions com el  $\text{Ca}^{++}$  i el  $\text{Cl}^-$ , que també disposen de canals específics. L'aigua és un cas a part.

Els canals iònics són proteïnes integrals de les membranes que generen porus a través d'elles. Aquestes macroestructures s'obren, bé per la unió específica de lligands, bé per canvis de voltatge a la membrana. Es troben a totes les membranes cel·lulars i són importants en processos tan diversos com l'excitació muscular i nerviosa, la secreció hormonal, la transducció sensorial, l'aprenentatge i la memòria, el creixement cel·lular, el balanç hídric i l'homeòstasi salina, i la regulació de pressió sanguínia (1). Una funció anòmla ocasiona greus trastorns

fisiològics la simptomatologia dels quals s'inclou en el terme *canalopaties* (2).

Tant en el potencial de membrana de les cèl·lules nervioses com en el potencial d'acció cardíac, la seqüència d'esdeveniments normalment s'inicia mitjançant una obertura de canals de  $\text{Na}^+$ . Això es produeix per canvis en el potencial de membrana o per l'acció de lligands, com és el cas dels neurotransmissors. L'entrada de  $\text{Na}^+$  que despolaritza la membrana activa els canals de potassi que, traient  $\text{K}^+$ , tendeix a restablir el potencial de membrana. Això genera la transmissió del potencial en un axó neuronal o el potencial d'acció cardíac. Com a conseqüència de la sortida de  $\text{K}^+$  es pot produir una obertura de canals de  $\text{Ca}^{++}$ . Els canals de clor normalment juguen un efecte compensatori als de  $\text{K}^+$  i intervenen en processos de control del volum cel·lular.

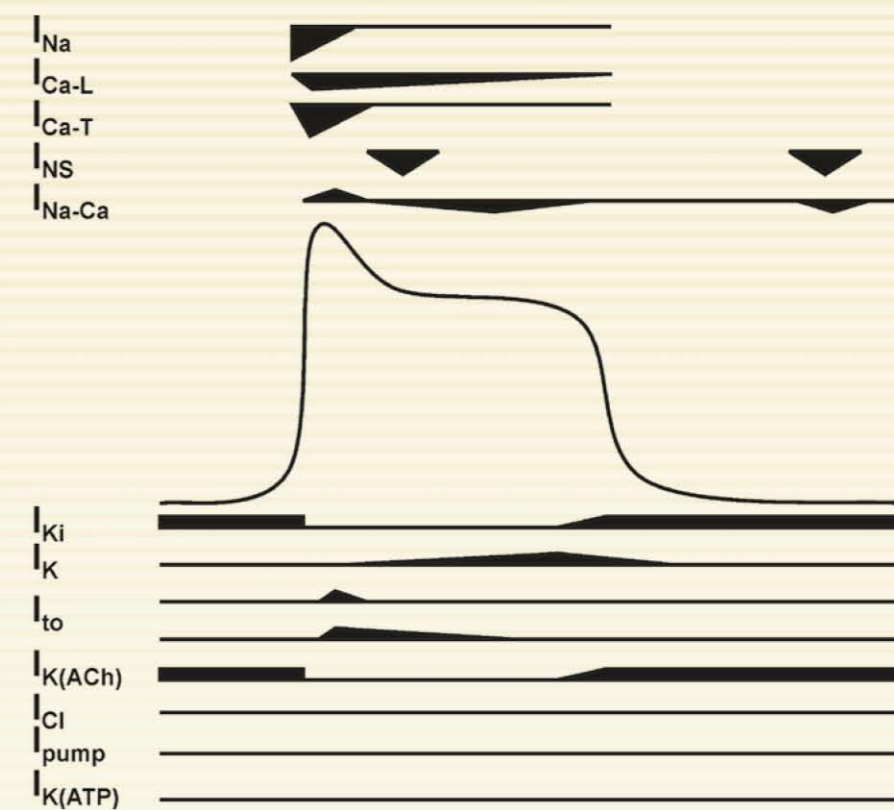


Figura 1. (pàgina anterior)

Estructura del porus d'un canal iònic. Només hi són representats els dominis S4 i S5 per una visió millor. Cada color (vermell, groc, verd i blau) representa una de les subunitats del tetràmer.

Figura 2. Potencial d'acció cardíac. Les activitats dels canals iònics que el generen se superposen a cada una de les fases.



sos, com és el potassi, diferents superfamílies. Així doncs, tenim dependents de voltatge per al  $\text{Na}^+$  (Nav),  $\text{K}^+$  (Kv),  $\text{Ca}^{++}$  (Cav) i  $\text{Cl}^-$  (CIC); de  $\text{K}^+$  dependents de  $\text{Ca}^{++}$  (KCa); de  $\text{K}^+$  de rectificació anòdala (Kir); de  $\text{K}^+$  amb dos porus (K2p); per a cations monovalents i dependents de nucleòtids cíclics (CNG); de  $\text{Cl}^-$  independents de voltatge i implicats en la fibrosi cística (CFTR); epitelials de  $\text{Na}^+$  (ENaC); de  $\text{Ca}^{++}$  dependents de lligand; aquaporines i, finalment, receptors que actuen com a canals iònics dependents de lligand com el de l'acetilcolina ( $\text{Na}^+$ ), glutamat (cations), glicina (anions) i el de  $\text{GABA}_A$  (anions). L'estructura varia entre les diferents famílies, però en molts casos existeix un denominador comú. Els Nav, Cav, Kv, KCa i CNG consten, majoritàriament, de sis dominis transmembrana. Entre els dominis S5 i S6 es troben les seqüències que constitueixen el porus i el filtre de selectivitat. En l'S4 presenten una sèrie d'aminoàcids carregats positivament que actuen de sensor de voltatge, detectant els

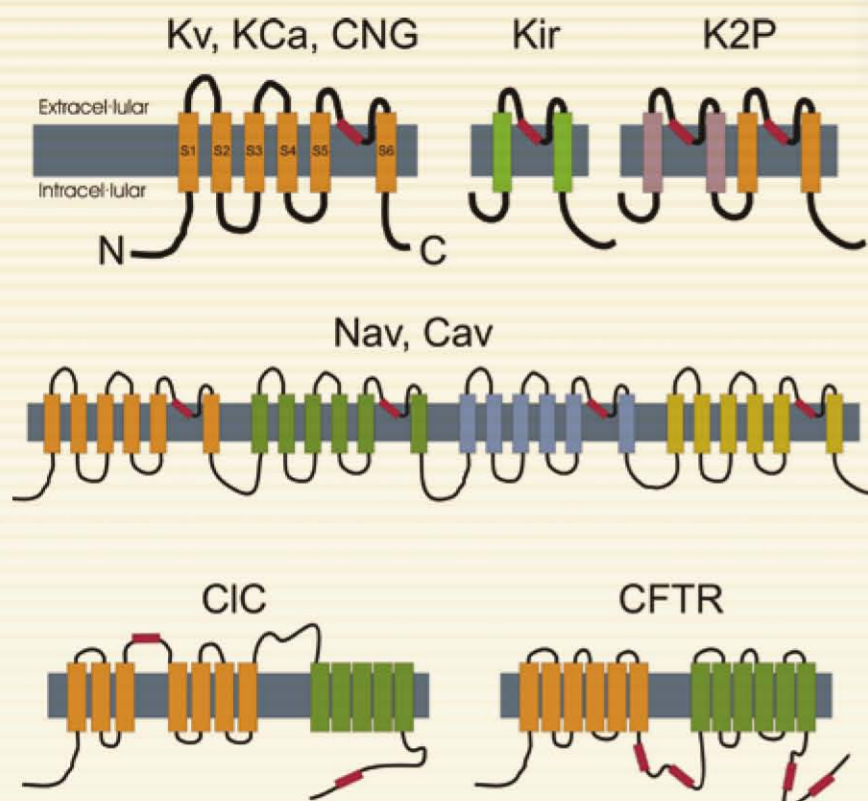


Figura 3. Diverses topologies dels canals iònics.

canvis en el potencial de membrana. El complex està format per un tetràmetre. Mentre que els Kv1-12 i KCa1-3 estan formats per 4 subunitats que poden estar codificades per diferents gens (estructures homo o heteromèriques), els canals de  $\text{Na}^+$  (Nav1.1-1.9) i  $\text{Ca}^{++}$  (Cav1-7) estan compostos per un únic producte gènic que genera tota l'estructura proteica. Els canals de  $\text{Cl}^-$  depen-

dents de voltatge (CLC-0-7) són un cas a part. Aquests posseeixen una topologia diferent formada fins per 13 dominis transmembrana i els oligòmers per només dues unitats. En el grup dels canals de  $\text{K}^+$  també existeixen excepcions. Així, doncs, els de rectificació anòdala (Kir1-6) presenten només els dominis S5-S6. També formen tetràmetres. Finalment, els K2p posseeixen dues estructures Kir en tàndem. Els K2p intervien en sensacions com el fred o la calor. Alguns s'activen amb capsàicina, una substància que es troba en el bitxo, i intervien en la sensació de calor quan es menja picant. En canvi, d'altres responen al fred i s'activen amb el mentol, produint la sensació de frescor. Existeix molta més diversitat entre els altres grans grups de canals que, per la seva extensió, és impossible incloure en aquest article (1, 2).

### Mesures de l'activitat

L'electrofisiologia permet l'estudi de l'activitat d'aquestes proteïnes mitjançant el registre dels corrents elèctrics que flueixen a través de la membrana quan el canal és obert. El flux de ions provoca un canvi de potencial que pot ser enregistrat mitjançant la inserció de microelectrodes. La diferència de potencial s'estableix amb un elèctrode de referència que se situa a la solució de l'exterior cel·lular. Usualment, les cèl·lules tenen un potencial de membrana entre -60 i -100 mV. Un segon elèctrode es pot inserir a la cèl·lula i s'utilitza per alterar el potencial de membrana. En una cèl·lula excitable (neurona o cardiomiòcit), quan s'injecta una gran quantitat de corrent positiu, es produeix una despolarització que generarà un potencial d'acció.

La tècnica del *voltatge clamp* consisteix en una fixació constant del voltatge. El corrent que flueix a través de la membrana a un potencial concret es pot mesurar com la suma del corrent iònic que és degut als canals iònics oberts i al corrent capacitatiu. Aquest darrer representat per la capacítancia de la membrana, que normalment és  $1 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ , i que només flueix quan es canvia el voltatge. Aquesta tècnica va ser desenvolupada a mitjan del segle passat per Hodgkin i Huxley en l'axó gegant del calamar. Actualment, aquesta aproximació s'utilitza de manera rutinària en els estudis d'expressió en ovòcits de *Xenopus laevis*.

Posteriorment, Neher i Sakmann van desenvolupar la tècnica de *patch-clamp*. Els registres de corrents en pegats de membrana permeten analitzar tant l'activitat dels canals iònics individu-

als com la totalitat dels canals d'una cèl·lula. La possibilitat de mesurar els d'un únic canal va revolucionar el coneixement dels canals iònics perquè es van poder realitzar caracteritzacions cinètiques molt precises de manera directa. La base de la tècnica és la formació d'un segell d'alta resistència ( $> 10 \text{ G}\Omega$ ) entre la cèl·lula i la micropipeta, que fa la funció d'elèctrode. Aquesta està situada a la superfície de la membrana cel·lular. L'alta resistència d'aquest segell permet mesurar el corrent que flueix a través dels canals amb un nivell molt baix de soroll (1, 2).

### Conseqüències d'una activitat anòdala

Les canalopaties poden estar generades per diferents motius. Una possibilitat són les mutacions a la regió promotora d'un gen que afecten a l'expressió del canal. També poden ser degudes a mutacions de la proteïna que afecten a l'activitat (la síndrome del QT llarg). Algunes estan generades, no per canvis en la seqüència i/o expressió del canal, sinó per efectes sobre proteïnes reguladores (diabetis *mellitus*). D'altres són degudes a la regeneració d'autoanticossos contra els canals provocant alteracions de la funció (*Myasthenia gravis*). Molt més especialitzada és encara la seva acció com agents letals produïts per bacteris (gramicidina), els quals s'insereixen a la membrana de la cèl·lula diana i generen un porus iònic no selectiu que provoca la lisi i la mort cel·lular. Moltes canalopaties són genèticament heterogènies i el mateix fenotip clínic pot ser degut a diferents gens. Per exemple, la síndrome del QT llarg, una cardiopatia que causa arítmia ventricular, està generada per tres gens diferents.

Tanmateix, diferents mutacions en un mateix gen (*CACNL1A4*, un Cav) causen diferents fenotips clínics, com episodis d'atàxia i migranyes hemiplègiques familiars. D'altres, com els *KCNQ* i *KCNE*, poden generar patologies tan diverses com cardiomiopaties i sordesa congènita (2).

Si els canals iònics no fossin tan importants, la naturalesa no s'hauria fixat en ells. Existeixen nombroses toxines d'origen molt divers que actuen de manera molt específica sobre ells. La gran afinitat d'aquestes toxines ha permès utilitzar-les ocasionalment com a lligands per a la purificació dels mateixos canals. Així, doncs, des de les anemones fins a la temuda mamba verda, passant per alguns mol·luscs, aranyes, escorpins i fins i tot les abelles han desenvolupat tot tipus de toxines peptídiques.

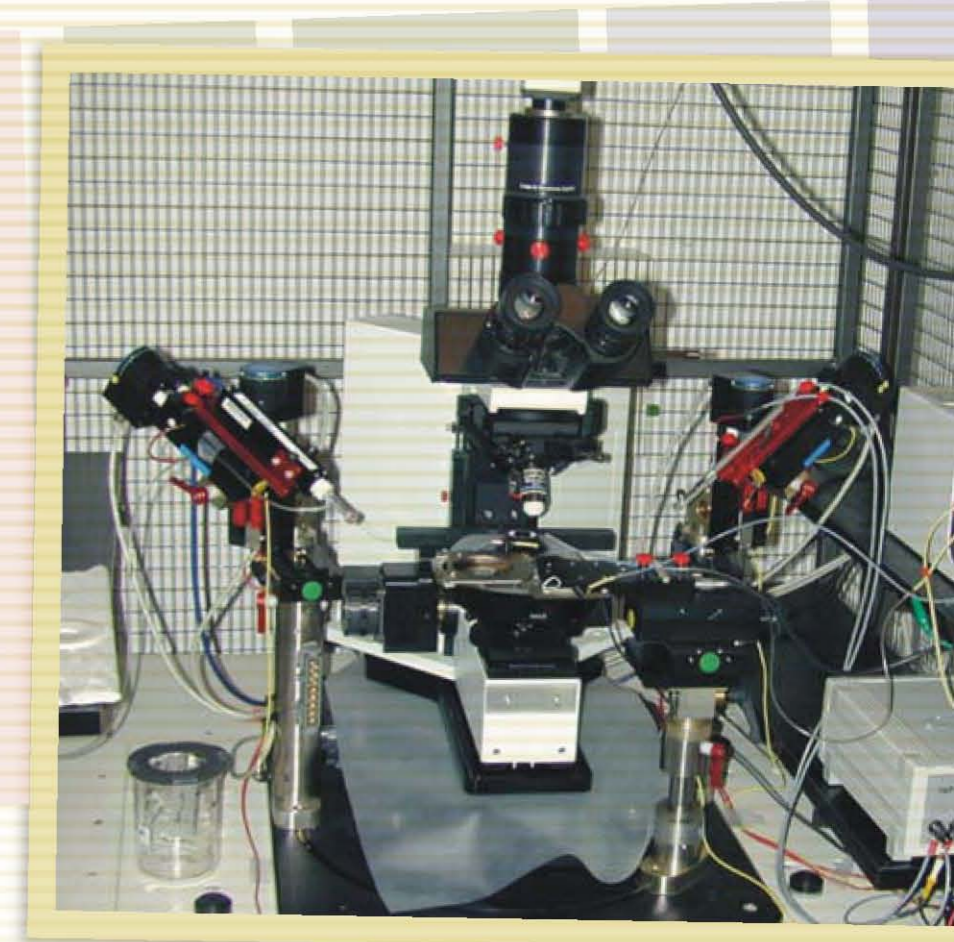


Figura 4. Equip d'electrofisiologia per a l'enregistrament de corrents iònics.

Moltes d'elles s'utilitzen tant per la defensa com per l'atac. Per exemple, les conotoxines, que alguns mol·luscs gastròpodes produeixen per defensar-se. Els més verinosos són *Conus geographus*, *Conus tulipa* i *Conus striatus* de la regió indopacífica. Les potents dendrotoxines procedeixen de la *Dendroaspis angusticeps* (mamba verda). Les dendrotoxines són petites molècules de 57-60 aminoàcids que inhibeixen els canals de  $\text{K}^+$ . Així podríem seguir amb una llarga llista de petites molècules perfectament dissenyades per l'evolució. Cal esmentar especialment, atesa la seva repercussió en l'home, la tetradotoxina (TTX), un inhibidor dels canals de  $\text{Na}^+$ . La TTX és una potent neurotoxina que es troba principalment en el fetge, ovaris i intestins de diverses espècies de peix globus, que són els més tòxics de la família dels tetraodòntids. La seva ingesta disminueix totes les constants vitals interferint en la conductivitat neuromuscular. Genera parestèsia, paràlisi general o la mort, segons la dosi. Com que no existeix un antídote conegut, es recomana un massatge cardíac i la respiració boca a boca. Aquesta toxina produeix una fallida respiratòria i el pacient s'asfixia paulatinament sense perdre la





Figura 5

Image: Emily Tenczar de la Universitat de Minnesota.



Figura 6

Image: Biopix.dk



Figura 7



Figura 8

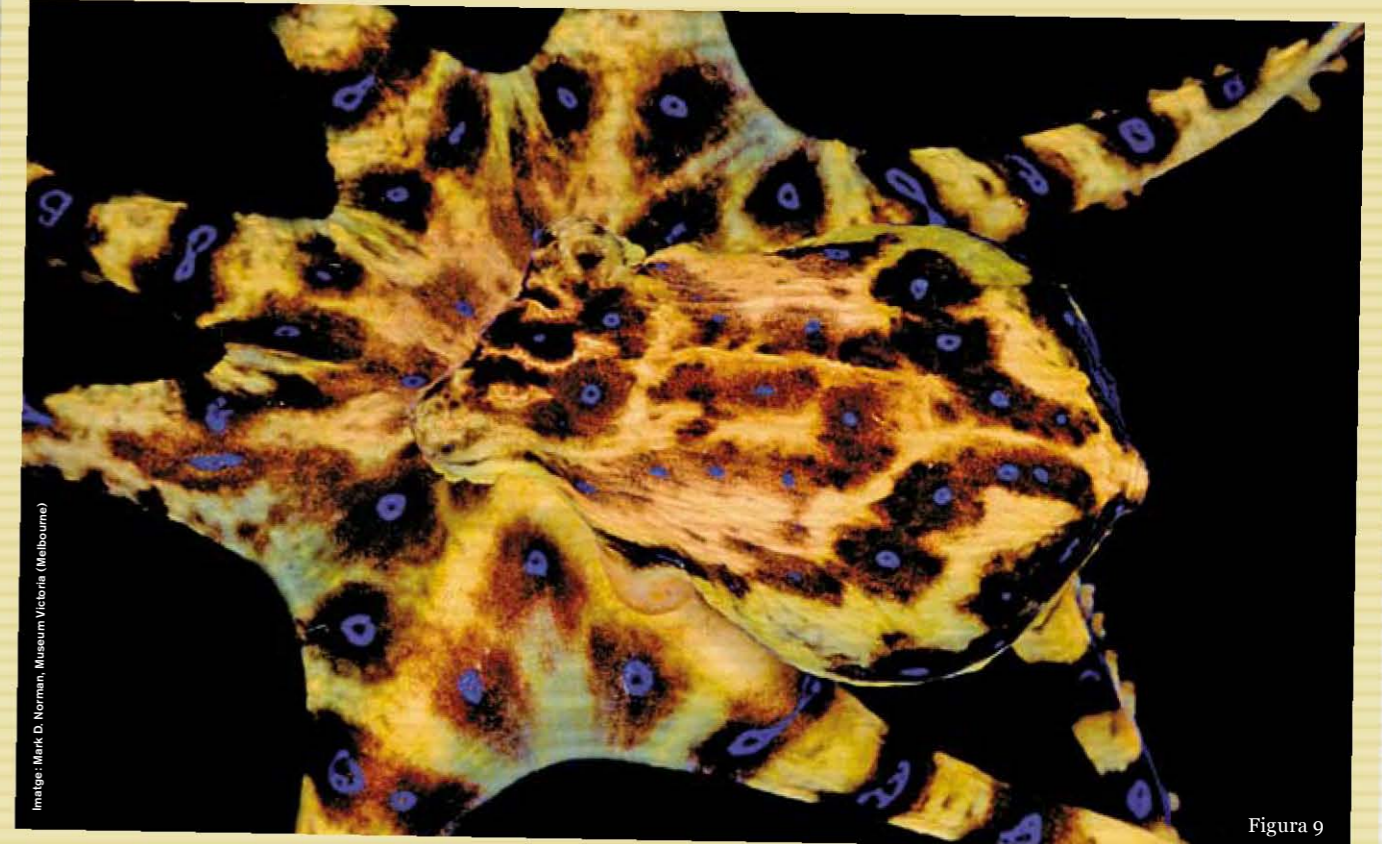


Figura 9

Image: Mark D. Norman, Museum Victoria (Melbourne)

Figura 5. L'escorpió *Centruroides margaritatus*.

Figura 6. *Conus striatus*, productor de conotoxina.

Figura 7. *Dendroaspis angusticeps* (mamba verda), productora d'una potent dendrotoxina.

Figura 8. Peixos fugu (*Takifugu rubripes*) en un mercat japonès.

Figura 9. Pop d'anells blaus (*Haplochaena maculosa*) d'Austràlia.

consciència en cap moment. El mecanisme pel qual es produeix la toxina no és del tot conegut, encara que aparentment hi estarien involucrats els bacteris. A Japó, el peix globus *ofugu* (*Takifugu rubripes*) és una menja exquisida que els cuiners nipons consideren un autèntic plat de luxe. Però precisament la toxicitat dels ovaris de les femelles ha provocat nombroses morts per enverinament en restaurants japonesos. Un peix globus pot contenir a les seves vísceres prou toxina per matar unes 30 persones. La TTX és 10.000 vegades més mortífera que el cianur. Un altre animal que presenta TTX com a eina de defensa és el pop d'anells blaus (*Haplochaena maculosa*), un cefalòpode australià. Aquest animal posseeix una saliva verinosa que és capaç de matar a 20 humans adults. La TTX també s'utilitza com a recreatiu, perquè en dosis adequades produeix eufòria i és un

dels components de la zombificació. Produeix tots els símptomes de la mort sense que tingui perquè produir-se i posteriorment es torna a la normalitat, encara que amb inevitables seqüeles físiques i psicològiques.

La tremenda efectivitat de les toxines sobre els canals iònics els atorga especial interès com a eines farmacològiques. Actualment, s'estan desenvolupant molècules derivades de toxines naturals per al tractament de malalties d'origen neurològic i cardiovascular. Té un interès especial la molècula derivada d'una toxina de l'anemone (*Stichodactyla helianthus*) que s'està mostrant efectiva, en models animals, en el tractament de malalties autoimmunitàries com l'esclerosi múltiple, la diabetis i l'artritis reumatoide (3, 4). En aquestes patologies, els limfòcits T presenten una elevada expressió

de *KCNA3*. Aquest canal de  $K^+$  intervé en l'activació limfocitària i s'inhibeix eficientment per verins de l'escorpió *Centruroides margaritatus* i de l'anemone *Stichodactyla helianthus*. Es pot considerar ben curiós el cas documentat fa més de 20 anys en què un pacient d'esclerosi múltiple va experimentar una millora considerable després d'haver estat picat accidentalment per un escorpió (5). El paper dels canals iònics és una àrea en expansió. La majoria de malalties d'elevada incidència en la nostra societat –cardiovasculars, neurològiques, càncer i diabetis– és deguda quasi de ben segur a una complexa interacció de nombrosos gens. Tanmateix, atès l'important paper que tenen els canals iònics en la fisiologia cel·lular, sembla impossible que les alteracions de les vies que regulen la funció del canal, o el canal mateix, puguin contribuir al desenvolupament d'aquestes patologies. Així, encara que no es pugui considerar una canalopatia, nombrosos estudis suggereixen que els canals iònics podrien tenir un paper rellevant en la progressió del càncer (6, 7). Durant els propers anys, veurem una millora espectacular en el desenvolupament dels fàrmacs i l'efectivitat dels tractaments que, utilitzant com a diana terapèutica els canals iònics, incrementaran la seva efectivitat. Simplement, com en tantes ocasions, observem i aprenem de la natura, que per alguna cosa es diu que és sàvia. |

### Referències

- (1) Hille, B. (2001). *Ion channels of excitable membranes*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.
- (2) Ashcroft, F.M. (2000). *Ion channels and disease: channelopathies*. Academic Press: San Diego.
- (3) Chandy, K.G. [et al.] (2004).  $K^+$  channels as targets for specific immunomodulation. *Trends Pharmacol. Sci.*, 25: 280-289.
- (4) Beeton, C. [et al.] (2006). Kv1.3 channels are a therapeutic target for T cell-mediated autoimmune diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 103: 17414-17419.
- (5) Breland, A.E. i Currier, R.D. (1983). Scorpion venom and multiple sclerosis. *Lancet*, 2: 1021.
- (6) Felipe, A. [et al.] (2006). Potassium channels: new targets in cancer therapy. *Cancer Detect. Prev.*, 30: 375-385.
- (7) Felipe, A. [et al.] (2007). Potassium Channels: Evaluating Alternative Cancer Therapies. *Adv. Gen. Mol. Cell. Ther.*, 1: 20-29.

### Antonio Felipe



És doctor en ciències biològiques per la Universitat de Barcelona (1989). Va treballar als laboratoris Ferrer (1974-85) i Prodesfarma (1985-89). Va ser *Research Associate* (1989) i *Visiting Assistant Professor* a la Universitat de Bristol, Gran Bretanya (1991), i a la Vanderbilt University, Estats Units (1992-94). Des de 1990 és professor titular de la Universitat de Barcelona. Dirigeix el Laboratori de Fisiologia Molecular del Departament de Bioquímica i Biologia Molecular de la UB i és membre de l'Institut de Biomedicina de la UB (IBUB). Especialitzat en els canals iònics, estudia el seu paper fisiològic i com la localització i l'estructura oligomèrica dels complexos modula la resposta cel·lular. Ha publicat més d'un centenar d'articles científics en revistes especialitzades.