

Sofia Ylihärsilä

AIVOKUOREN ASTROSYTTIEN IONIKANAVAT

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta
Kandidaatintutkielma
Huhtikuu 2020

TIIVISTELMÄ

Sofia Ylihärsilä: Aivokuoren astroosyyttien ionikanavat

Kandidaatintutkielma

Tampereen yliopisto

Bioteknologian tutkinto-ohjelma

Huhtikuu 2020

Tässä kandidaatintutkielmassa tarkastellaan aivokuoren astroosyyttien solukalvolla ilmentyviä ionikanavia. Tutkielmassa käsitellään myös näiden kanavien rooleja astroosyyttien toiminnassa. Astroosyytit ovat hermoston homeostaattisia soluja, jotka esimerkiksi ionipitoisuuksia säätelemällä vaikuttavat hermoston oikeanlaiseen toimintaan. Ionit, jotka liikkuvat kalvon läpi, ovat Ca^{2+} , Cl^- , K^+ ja Na^+ . Vesimolekyylien liikkuminen on myös tärkeää.

Aivokuoren alueella havaittuja ionikanavia kalsiumille ovat TRPC-, TRPV-, TRPM-, TRPA-, Orai-, Piezo1-, CNG- ja Ca_v -kanavat. Kloridi-ioni pääsee kulkemaan Clc - ja VRAC-kanavien kautta. Kaliumin ionikanavista on havaittu K_{ir} -, K_2P -, K_v -, SK-, BK- ja HCN-luokkien kanavia. Natriumioni siirtyy solukalvon läpi osittain samojen ei-spesifisten kanavien, kuten TRP- ja HCN-kanavien, kautta ja lisäksi jänniteriippuvaisen Na_v -kanavan kautta. Lisäksi vesimolekyyli siirtyy akvaporiniin välityksellä. Ionikanavatutkimukset on pääosin tehty jyrksijöillä eli hiirillä ja rotilla. Havainnot on tehty sekä *in vitro* että *in situ* hyödyntäen soluviljelmiä sekä kudosleikkeitä. Eri ionikanaville on kuvailtu erilaisia rooleja, ja ne myös aktivoituvat eri tavoin.

Kalsiumsignaalointi astroosyyteissä on hyvin monimuotoista, ja se näyttää nykytutkimusten valossa eroavan astroosyyttien haarakkeiden ja sooman välillä. Kalsiumsignaalointi liittyy solussa muun muassa proliferaatioon, migraatioon ja molekyylien erittämiseen. Osa solukalvon kalsiumkanavista aktivoituu, kun kalsiumia on vapautunut solunsisäisistä varastoista. Kalsiumkanavien toiminta liittyy myös osmoregulaatioon. Kloridi-ioni puolestaan vaikuttaa solun proliferaatioon, differentiaatioon ja apoptoosiin. Astroosyyteissä kloridikanavat ovat tärkeitä tilavuuden säätelijöitä. Kaliumkanavien tehtävänä on ylläpitää oikeaa soluvälitilan ionikonsentraatiota sekä solukalvopotentiaalia. Tämän lisäksi ne osallistuvat muun muassa verisuonten tilavuuden säätelyyn.

Avainsanat: Astroosyytti, ionikanava, aivokuori

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

ALKUSANAT

Tämä kandidaatintutkielma on tehty Tampereen yliopistossa bioteknologian tutkinto-ohjelmassa. Haluan kiittää Computational Neuroscience (CNS) -tutkimusryhmää saamastani tuesta tutkielman tekemiseen. Ohjaajanani toimi tutkimusryhmän johtaja Marja-Leena Linne, ja kiitän erityisesti häntä hyvästä ohjauksesta.

Tampereella, 29.4.2020

Sofia Ylihärtilä

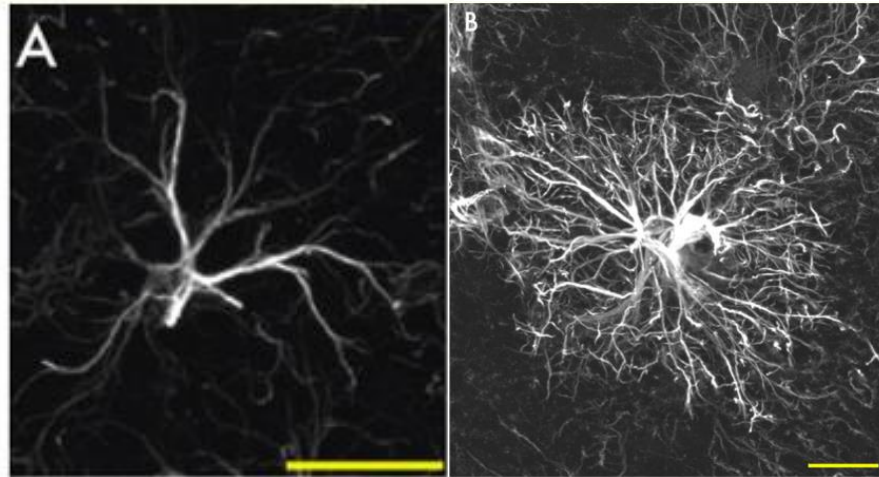
SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	4
2. AIVOKUOREN ASTROSYTTIEN IONIKANAVATYYPIT.....	6
3. IONIKANAVIEN MERKITYS	9
3.1 Kalsiumkanavien tehtävät ja rooli	9
3.2 Kaliumkanavien tehtävät ja rooli	12
3.3 Anionikanavien tehtävät ja rooli	16
3.4 Akvaporinien tehtävät ja rooli	17
3.5 Natriumkanavien tehtävät ja rooli.....	18
4. YHTEENVETO	20
LÄHTEET	22

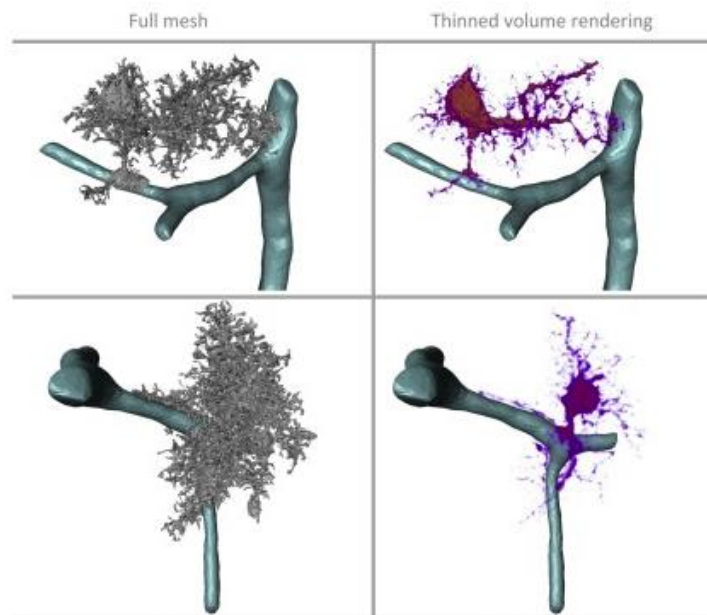
1. JOHDANTO

Gliasolut ovat hermoston tukisoluja. Viime aikoina on kuitenkin havaittu, että ne toimivat paljon aktiivisemmassa roolissa kuin aiemmin on ajateltu (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Gliasolut mahdollistavat hermoston oikeanlaisen toiminnan. Tunnettuja keskushermoston gliasolutyyppejä ovat astrozyytit, oligodendrosyytit, NG2-gliasolut sekä mikrogliasolut (Verkhatsky ja Butt 2013). Lisäksi ääreishermostossa on omat gliasolutyypinsä. Gliasolut kehittyvät hermosolujen tavoin alkion ektodermistä. Astrozyyttien kehitysvaiheisiin kuuluu kehittyminen hermoston kantasoluista, prekursorisolujen liikkuminen ja astrozyyttimarkkereiden ekspressio. Gliasolut sijaitsevat hermosolujen välittömässä läheisyydessä, tai ne erottavat hermoston osia mesodermaalisista osista, kuten verisuonista (Kettenmann ym. 2013). Gliasolujen voidaan määrittää olevan hermoston homeostaattisia soluja (Verkhatsky ja Butt 2013), sillä niillä on useita tärkeitä tehtäviä, jotka tukevat hermoston toimintaa.

Astrozyytit säätelevät ionikonsentraatioita soluvälitilassa ja vaikuttavat täten hermosolujen toimintaan. Lisäksi astrozyytit säätelevät neurotransmittereiden pitoisuuksia. Astrozyyttien adaptiivinen muokkautuvuus mahdollistaa keskushermoston toiminnan kehityksen ja ikääntymisen aikana (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Astrozyyttien rooleihin kuuluvat erilaiset tehtävät kehityksen aikana sekä metabolian ja homeostaasin säätely. Niillä on lisäksi tunnettu asema erilaisten sairauksien ilmenemisessä. Tämänhetkisen käsityksen mukaan hermosolut siirtävät informaatiota astrozyyteille neurotransmittereiden sitoutumisen kautta, mikä aikaansaa kalsiumin vapautumisen astrozyyttien sytosoliin (Volterra ym. 2014). Kalsiumpitoisuuden kasvu taas saa aikaan joissakin tilanteissa gliotransmittereiden vapauttamisen (Volterra ym. 2014). Gliotransmitterit voivat vaikuttaa muihin gliasoluihin, hermosoluihin ja verisuonten soluihin (Volterra ym. 2014). Kalsiumsignaaloinnin vaikutuksista on ollut eriäviä mielipiteitä ja yhtenäistä, vakiintunutta näkemystä ei vielä ole (Bazargani ja Attwell 2016). Astrozyyttien roolia esimerkiksi oppimisessa ja muistin muodostumisessa ei vielä tiedetä. Astrozyyteillä on haarakkeita, jotka lähtevät soomasta ja ulottuvat synapsien läheisyyteen tai verisuonten ympärille. Vaikuttaa siltä, että kalsiumaktiivisuus on keskittynyt erityisesti haarakkeisiin, mutta aktiivisuutta on myös soomassa (Bazargani ja Attwell 2016). Haarakkeista ja haaroittuneisuudesta puhuttaessa on hyvä huomata, että ihmisen ja jyrsijän astrozyyteissä on suuri ero haaroittuneisuudessa, ks. Kuva 1 (Oberheim ym. 2009). Myös astrozyyttien kolmiulotteisesta muodosta on vasta viime aikoina saatu mallinnuksia, ks. Kuva 2 (Cali ym. 2019).



Kuva 1. Tyypillinen protoplasminen astroosyytti hiirellä (A) ja ihmisellä (B). Mitta-asteikko 20 μm . (Oberheim ym. 2009)



Kuva 2. 3D-mallinnusta astroosyyttien morfologiasta. (Cali ym. 2019)

Eri ionien pitoisuuksien säätely soluväliaineessa on keskeistä hermoston oikeanlaisen toiminnan kannalta. Ionit liikkuvat solujen solukalvon puolelta toiselle ionikanavien kautta tai kuljetusproteiinien välityksellä. Hermosolujen ionikanavista on vakiintunut käsitys ja hermosolujen toiminnan mallintaminen on tämän takia mahdollista. Astroosyyttien kohdalla puolestaan kaikista ilmennetyistä ionikanavista ja kuljetusproteiineista ei ole vielä varmuutta varsinkaan muilla tutkimustavoilla kuin soluviljelmillä. Ekspressoituvien ionikanavien ja kuljetusproteiinien selvittäminen onkin oleellista, jotta astroosyyttien matemaattinen mallintaminen on jatkossa

mahdollista. Tässä kandidaatintutkielmassa on tarkoitus selvittää kirjallisuuden perusteella, mikä on tämänhetkinen tietämys astrozyttien ionikanavista ja niiden merkityksestä solujen toiminnalle. Tutkielmassa tarkastellaan ainoastaan aivokuoren astrozyttejä, jotta saataisiin yhtenäinen kuva yhden aivoalueen ominaisuuksista tämänhetkisen tiedon mukaan. Tarkasteluun otetaan ainoastaan solukalvolla ilmentyvät ionikanavat. Työssä selvitetään myös, onko havainnot tehty *in vitro* eli soluviljelmillä vai *in vivo* eli elävillä eläimillä.

2. AIVOKUOREN ASTROZYTTIEN IONIKANAVATYYPIT

Astrozyttien ionisignaloinnissa toimivat ionit ovat kalsium (Ca^{2+}), kalium (K^+), kloridi (Cl^-) ja natrium (Na^+). Näille ioneille on olemassa useita erilaisia kanavia, joiden välityksellä ionit pääsevät liikkumaan kalvon puolelta toiselle. Polaariset vesimolekyylit liikkuvat akvaporiniinien kautta. Astrozyyteissä yleisin akvaporiniini (AQP) on AQP4 (Kettenmann ym. 2013).

Verkhatsky ja Nedergaard (2018) ovat koonneet tietoa astrozyyteissä ilmenevistä ionikanavista. Niistä on tässä tutkielmassa otettu käsittelyyn aivokuoren alueelta löydetty ionikanavat. Lisäksi käsitellään uusimpia tutkimuksia aiheesta. Näistä tiedoista on koottu taulukko (Taulukko 1). Ionikanavia on tutkittu molekyylibiologisin menetelmin, ja joissain tutkimuksissa on käytetty sähköfysiologisia menetelmiä, kuten patch clamp -tekniikkaa.

Taulukko 1. Aivokuoren astrozyttien ionikanavat

Lähde	Eläin	Ikä	Kanava	Viljelmä/Leike
Belkacemi ym. 2017	Transgeeninen Hiiri	P0-P3 sekä 8 ja 11 vko	TRPC1, TRPC3*	Viljelmä ja leike
Benesova ym. 2012	Hiiri	P30	TWIK1	Solususpensio ja leike
Boscia ym. 2017	Transgeeninen hiiri	P1-P2 ja 6 kk sekä 12 kk	$\text{K}_{\text{v}}3.4^*$	Viljelmä ja leike
Chai ym. 2013	Hiiri, rotta	Vastasyntynyt sekä aikuinen	AQP5*	Viljelmä ja leike
Diaz ym. 2019	Hiiri	8 vko	TRPV4	Leike
Formaggio ym. 2018	Hiiri	Aikuinen	VRAC	Viljelmä ja leike

Hoshi ym. 2018	Ihminen	Kuollut	AQP4*	Leike
Jiang ym. 2019	Hiiri ja rotta	-	TRPA1*	Leike
Kettenmann ym. 2013	Rotta	P0-P2 sekä P1, P8 ja P55	TRPC1, TRPC4, TRPC5	Viljelmä, akuutisti eristetyt solut
Li ym. 2019	Rotta	Aikuinen	AQP1, AQP4*	Leike
Minieri ym. 2013	Rotta	P1-P2	TREK-1, TREK-2	Viljelmä
Papanikolau ym. 2019	Hiiri	Aikuinen	K _{ir} 7.1	Leike
Podda ym. 2012	Rotta ja hiiri	P1-P2 ja P25-P28	CNGA2	Viljelmä ja leike
Ratnam ym. 2018	Rotta	E18, P1-P2	TRPM7	Viljelmä
Rivera-Pagán ym. 2015	Rotta	P1-P2	TREK-2*	Viljelmä
Trillo-Contreras ym. 2018	Hiiri	Nuori (2-4 kk) ja vanha (>14 kk)	AQP4*	Leike
Velasco-Estevez, ym. 2020	Hiiri	P1	Piezo1	Viljelmä
Verkhatsky ja Nedergaard, 2018 (tästä rivistä alaspäin)	Hiiri	6-10 vko	Na _v 1.5	Leike
	Hiiri	E17-18	TRPC1	Viljelmä
	Rotta	Vastasyntynyt	TRPV4	Viljelmä, leike
	Rotta	P0-P2	Clc2	Viljelmä
	Hiiri	P1-P2	Ca _v 1.2, Ca _v 1.3	Viljelmä
	Rotta	P1	ORAI1	Viljelmä
	Rotta	P0-P1	TRPV1	Viljelmä ja leike
	Rotta	P1-P2	TRPC1	Viljelmä
	Hiiri	E17-18	TRPC6	Viljelmä
	Hiiri	Aikuinen	K _{ir} 4.1/K _{ir} 5.1 heteromeerinen	Leike
	Rotta ja hiiri	Nuori (>P20) ja aikuinen	BK	Leike
	Hiiri	Aikuinen	K _{Ca} 3.1	Leike
	Hiiri	P10, P20, P30, P50, MCAO:n jälkeiset D3, D7, D14	HCN1, HCN2, HCN3	Solususpensio
	Hiiri ja rotta	P50 ja 7-9 -viikkoisia. Paikallisen iskemian jälkeen D7 ja D14	HCN1, HCN2, HCN3, HCN4	Leike
	Hiiri	Aikuinen (>4 viikkoa)	Clc2	Leike, akuutisti eristetyt solut
	Rotta	Vastasyntynyt	VRAC	Viljelmä
	Rotta	P1-P2	VRAC	Viljelmä
	Hiiri	P10-P20	AQP4*	Leike ja homogenisoitu kudoksenäyte
	Rotta	P1 ja P14-P18	VRAC	Viljelmä

Wu ym. 2015	Rotta	P1	K _A , K _D	Viljelmä
Xiong ym. 2019	Ihminen	Kuollut	K _{ir} 4.1*	Homogenisoitu kudoksenäyte
Zhang ym. 2016	Rotta	P2	TRPV2*	Viljelmä ja leike

*= Havaittu aktiivisuus/lisääntynyt ekspressio jonkin sairauden yhteydessä, P = päivää syntymän jälkeen, D = päivää tapahtuman jälkeen, E = sikiön ikä päivissä, MCAO = middle cerebral artery occlusion

Transient receptor potential -ionikanavat (TRP) jaotellaan useisiin luokkiin, joista aivokuoren astroosyyteissä on havaittu luokat TRPC (canonical) (Kettenmann ym. 2013, Belkacemi ym. 2017, Verkhatsky ja Nedergaard 2018), TRPV (vanilloid) (Zhang ym. 2016, Verkhatsky ja Nedergaard 2018, Diaz ym. 2019), TRPA (ankyrin) (Jiang ym. 2019) ja TRPM (melastatin) (Ratnam ym. 2018). TRP-kanavat ovat kationikanavia, ja esimerkiksi kalsium kulkee niiden kautta solun sisään. Toinen kationikanavatyyppe on ei-selektiivinen Piezo1, jonka kautta kalsium myös kulkee (Velasco-Estevez ym. 2020). Lisäksi CNG-kationikanavista (cyclic nucleotide-gated) on havaittu CNGA2-alaluokka, jolla on havaittu suurempi kalsiumläpäisevyys kuin joillakin muilla alaluokilla (Podda ym. 2012). Kalsium pääsee soluun myös jänniteriippuvaisen kalsiumkanavan (Ca_v) kautta. Tästä kanavatyypistä on havaittu alaryhmät Ca_v1.2 ja Ca_v1.3 (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Nämä alaryhmät kuuluvat L-tyyppin jänniteriippuvaisiin kalsiumkanaviin. Lisäksi Orai-kanava Orai1 mahdollistaa kalsiumin virtauksen (Verkhatsky ja Nedergaard 2018).

Kaliumille on olemassa useita kanavia. Aivokuoren astroosyyteistä on löydetty inward rectifying -tyypin kanavista (K_{ir}) heteromeerinen kanava K_{ir}4.1/K_{ir}5.1 ((Verkhatsky ja Nedergaard 2018) sekä kanavat K_{ir}7.1 (Papanikolaou ym. 2019) ja K_{ir}4.1(Xiong ym. 2019). Näiden kanavien lisäksi on havaittu sekä large-conductance Ca²⁺ activated K⁺ -kanavia (BK) että small-conductance Ca²⁺-activated K⁺ -kanavia (SK) (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). BK-kanavat ovat suuren johtavuuden kaliumkanavia, kun taas SK-kanavat ovat pienen johtavuuden kanavia. Molemmat kanavatyypit aktivoituvat Ca²⁺-ioneista. BK-kanavista käytetään myös merkintää K_{Ca}1.1 ja SK-kanavia ovat puolestaan K_{Ca}2.1-2.3 sekä K_{Ca}3.1 (Kettenmann ym. 2013). Joidenkin lähteiden mukaan K_{Ca}3.1 luokitellaan intermediate conductance -kanavaksi (IK) (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Myös two-pore-domain -kanavatyypistä (K₂P) on tehty havaintoja. Aivokuoren astroosyyteistä on löydetty K₂P2.1-kanava, josta käytetään myös nimeä TREK-1 ja K₂P10.1-kanava, josta käytetään nimeä TREK-2 (Minieri ym. 2013, Rivera-Pagán ym. 2015). Myös kanava TWIK-1 eli K₂P1.1 on havaittu (Benesova ym. 2012). Jänniteriippuvaisista kaliumkanavista (K_v) on havaittu K_v3.4 (Boscia ym. 2017). Lisäksi on olemassa hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated -kanavia (HCN), jotka ovat ei-spesifisiä kationikanavia (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). K⁺- tai Na⁺-ionit voivat läpäistä kalvon näiden kanavien kautta Na⁺/K⁺-suhteessa 1:4.

Natrium voi liikkua solukalvon läpi edellä mainittujen kationikanavien, kuten TRP- ja HCN-kanavien kautta, ja lisäksi on havaittu jänniteriippuvaisista natriumkanavista kanava Na_v1.5 (Verkhatsky ja

Nedergaard 2018). Toiminnallisten jänniteriippuvaisten natriumkanavien (Na_v) ilmenemisestä astrozyyteissä on käyty keskustelua, eikä niiden olemassaolosta ole vielä varmuutta (Kettenmann ym. 2013). Toisaalta havaintoja niistä on ja $\text{Na}_v1.5$ -kanavaa pidetään vallitsevana astrozyyttien Na_v -kanavana, joka on havaittu *in situ* (Verkhatsky ja Nedergaard 2018).

Anionikanavista on havaittu Clc -kanavatyyppin kanava Clc2 (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Tämä kanava on sisäänpäin suuntaava kloridikanava. Toinen anionikanavaluokka on VRAC-kanavat (volume-regulated anion channels) (Verkhatsky ja Nedergaard 2018, Formaggio ym. 2019). VRAC-kanavat aktivoituvat, kun solut ovat hypotonisessa ympäristössä. Tällöin kanava välittää ulospäin suuntautuvaa kloridi-ionien virtaa. VRAC-kanavista käytetään myös nimitystä VSOR (volume-sensitive outwardly rectifying anion channels) (Kettenmann ym. 2013).

3. IONIKANAVIEN MERKITYS

Astrozyyttien ionipitoisuudet muuttuvat fysiologisen stimulaation seurauksena. Ionipitoisuuksien muutokset liittyvät niihin moniin tehtäviin, joita astrozyyteillä on hermostossa. Ionisignalointi voi tapahtua rajoitetulla tai laajemmalla alueella solussa, tai se voi levitä solujenvälisinä aaltoina (Verkhatsky ym. 2019). Nopeat muutokset astrozyyttien ionien konsentraatioissa ja signaalien siirtyminen ympäröiviin soluihin välittävät informaatiota hermostossa.

3.1 Kalsiumkanavien tehtävät ja rooli

Suurin osa astrozyyttien ionisignaloinnin tutkimuksesta on keskittynyt kalsiumin rooliin (Verkhatsky ym. 2019). Solunsisäisellä kalsiumilla tiedetään olevan vaikutuksia moniin solun toimintoihin, kuten morfologian muutoksiin, proliferaatioon ja molekyylien erittymiseen (Zhang ym. 2016). Kalsiumsignalointi on hyvin erilaista astrozyyttien soomassa verrattuna haarakkeisiin. Kalsiumvirtaukset ovat yleisempiä haarakkeissa, ja niissä kalsiumia siirtyy sytosoliin myös solukalvon kanavien kautta, kun taas soomassa kalsium vapautuu pääosin solun sisäisistä rakenteista, kuten solulimakalvostosta (Bazargani & Attwell 2016). Soomassa kalsiumkonsentraation muutokset ovat huomattavasti hitaampia ja harvinaisempia kuin haarakkeissa (Volterra ym. 2014). Kalsiumsignaloinnin on havaittu olevan hyvin monimuotoista, mikä viittaa siihen, että sillä on solun toiminnalle merkitystä, miten, missä ja milloin kalsiumvirtaus syntyy (Volterra ym. 2014). Yksi kysymys on, miten astrozyyttien haarakkeissa synapsien lähellä tapahtuva solun kalsiumpitoisuuden nousu johtaa vasoaktiivisten molekyylien vapauttamiseen

haarakkeissa, jotka ovat verisuonten lähellä. Tässä vaihtoehtona on, että synapsien läheisissä haarakkeissa syntyy vasoaktiivisia aineita, jotka diffundoituvat verisuoniin. Lisäksi Ca^{2+} :n aiheuttama Ca^{2+} :n vapauttaminen varastoista tai ATP:n vapauttaminen ja sitoutuminen ATP-reseptoreihin voi siirtää signaalin synapsien läheisyydestä verisuonten lähelle (Bazargani & Attwell 2016). Gliotransmittereiden mahdollinen vapautuminen solun kalsiumpitoisuuden noustessa saattaa vaikuttaa muun muassa synapsiyhteyksien ja synapsiviestinnän vahvistumiseen (LTP, long-term potentiation) ja heikkenemiseen (LTD, long-term depression) (Volterra ym. 2014). Astrozyttien on havaittu reagoivan myös vähäiseen synaptiseen aktiivisuuteen haarakkeissaan (Volterra ym. 2014). Gliotransmittereita, joita astrozytit saattavat joissain tilanteissa vapauttaa, ovat muun muassa glutamaatti, ATP, D-seriini, tauriini sekä isommat molekyylit, kuten A-tyypin natriureettinen peptidi ja $\text{TNF-}\alpha$ (Podda ym. 2012).

TRP-kanavista TRPC-kanavat osallistuvat SOCE-prosessiin (store operated Ca^{2+} entry) (Kettenmann ym. 2013). Tämä tarkoittaa sitä, että solunsisäisistä varastoista vapautunut kalsium aktivoi solukalvon TRPC-kanavat, ja näin mahdollistuva kalsiumionien virtaus solun sisään täydentää solulimakalvoston tyhjentyneitä kalsiumvarastoja. SOCE on rajoitettu mikrodomeeneille solukalvolla, ja se toimii solulimakalvoston läheisyydessä (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). TRPC1- ja TRPC3-kanavista on toisaalta myös tutkimustuloksia, joissa näiden kanavien ei ole havaittu merkittävästi osallistuvan SOCE:en (Belkacemi ym. 2017). TRPC-kanavien lisäksi Orai-kanavat välittävät Ca^{2+} :n siirtymistä soluun SOCE:ssa (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). TRPC1 muodostaa avustavien TRPC4- ja TRPC5-alyksiköiden kanssa toiminnallisen kationikanavan, jolla on huomattava Ca^{2+} -permeabiliteetti (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). TRPC1-välitteinen solunsisäisen kalsiumpitoisuuden nousu säätelee glutamaatin vapauttamista (Kettenmann ym. 2013). TRPC3 edistää astrozyttien proliferaatiota ja migraatiota sekä astrogliosia ja aivokuoren turvotuksen syntyä pistohaavan yhteydessä (Belkacemi ym. 2017). Astrogliosissa astrozytit muuttuvat reaktiivisiksi sekä proliferoituvat ja kasvavat vaurioituneelle alueelle. Belkacemi ym. (2017) havaitsivat myös, että TRPC1 vähentää merkittävästi TRPC3:n vaikutuksia.

TRPV-kanavista TRPV4 osallistuu verisuonten jännityksen säätelyyn (Diaz ym. 2019). TRPV4 sijoittuu astrozyttien haarakkeisiin lähelle pehmeäkalvoa ja verisuonia (Kettenmann ym. 2013). Se muodostaa akvaporiniin AQP4:n kanssa kompleksin, joka toimii osmosensorina (Kettenmann ym. 2013). TRPV4-kanavat ovat mekanosensitiivisiä ja reagoivat muutoksiin paineessa, venytyksessä ja solun turpoamisessa (Diaz ym. 2019). Astrozyttien turvotessa hypo-osmoottisessa ympäristössä mekanosensitiivinen TRPV4 päästää kalsiumioneja soluun ja tilavuuden pienentäminen alkaa (Kettenmann ym. 2013). Osmoregulaatio AQP:n kautta ja sen mahdollinen häiriintyminen liittyy moniin sairauksiin, kuten Alzheimerin tautiin, amyotrofiseen lateraaliskleroosiin, Parkinsonin tautiin, MS-tautiin, optikusneuriittiin eli näköhermotulehdukseen,

epilepsiaan, aivovammoihin ja halvaantumiseen (Hubbard ym. 2018). Kun TRPV4 aktivoituu, Ca^{2+} :n lisääntyminen solussa johtaa glutamaatin vapauttamiseen ja myös ATP:n vapauttamiseen, mikä johtaa purinergisten reseptorien ja Ca^{2+} :n kautta tulehdusta voimistavien aineiden vapauttamiseen (Diaz ym. 2019). TRPV4-kanavien ekspression on havaittu lisääntyvän korkean verenpaineen yhteydessä, ja epänormaali Ca^{2+} -dynamiikka edistää kognitiivisten kykyjen heikkenemistä (Diaz ym. 2019). TRPV4:n lisäksi aivokuoren astrosyyteissä on havaittu TRPV-luokan kanavista TRPV1-kanava ja TRPV2-kanava. TRPV1:n aktivoituminen saattaa johtua soluvälitilan happamoitumisesta (Kettenmann ym. 2013, Verkhatsky ja Nedergaard 2018). TRPV1:n on ehdotettu säätelevän CNF:n (ciliary neurotrophic factor) tuotantoa sekä solutukirangan uudelleenjärjestelyä (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Zhang ym. (2016) havaitsivat ensimmäisinä aivokuoren astrosyyteissä TRPV2-kanavan, joka on tärkeä osmoottisen tasapainon säätelyssä. TRPV2 voi aktivoitua lämmöstä, osmolariteetin muutoksista ja solukalvon venytyksestä, ja sillä on korkea Ca^{2+} -permeabiliteetti. Hapen ja glukoosin puutteen sekä reoksygenaation (OGD/R, oxygen-glucose deprivation and reoxygenation) havaittiin aiheuttavan TRPV2-kanavan ilmentymistä, ja siten kanava voi olla osallisena iskemian patogeneesissä. TRPV2-kanavan toiminnan estäminen johtaa NGF:n (nerve growth factor) eritykseen. NGF vaikuttaa suojaavasti aivohalvauksen alkuvaiheessa. Kanavan toiminnan estäminen johtaa myös astrosyyttien lisääntyneeseen proliferaatioon sekä normaaleissa olosuhteissa että OGD/R-olosuhteissa (Zhang ym. 2016).

TRPA-kanavista aivokuoren astrosyyteissä on tunnistettu TRPA1, joka on sensitiivinen oksidatiiviselle stressille. TRPA1 välittää aivokuoren laajenevaa vaimentumaa (cortical spreading depression, CSD) (Jiang ym. 2019). Jiang ym. (2019) havaitsivat, että TRPA1:n toimintaan CSD:ssä liittyy ROS (reactive oxygen species) ja CGRP (calcitonin gene-related peptide). He ehdottavat, että ROS aiheuttaa TRPA1:n aktivaation ja CGRP:n tuotannon. TRPA1:n inaktivointi vähentää todennäköisyyttä CSD:lle. Lisäksi tiedetään, että tämä kanavatyyppe aktivoituu haitallisesta kylmyydestä, kirpeistä kasvipiperäisistä aineista, kasvutekijöistä ja tulehdusvälittäjäaineista (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). TRPA1-kanavalla on huomattava Ca^{2+} -permeabiliteetti, ja kanavan toiminta säätelee D-seriinin vapauttamista (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). TRPM-luokan kanavista taas on havaittu kanavatyyppe TRPM7, jonka rakenteeseen kuuluu entsyymaattinen domeeni, joka säätelee kanavan aktiivisuutta sytosolin Ca^{2+} -pitoisuuden mukaan (Ratnam ym. 2018). Kanavan toiminta saattaa liittyä hermosolujen haarakkeiden kasvamiseen, sillä kanavan ekspressoituminen on suurinta tässä aivojen kehitysvaiheessa (Ratnam ym. 2018).

Toinen kationikanavatyyppe TRP-kanavien lisäksi on Piezo1, joka on mekanosensitiivinen sekä jänniteriippuvainen kanava (Velasco-Estevez ym. 2020). Piezo1-kanavan avautuminen

mahdollistaa kalsiumionien välittämän signaalikaskadin, joka vaikuttaa hermosolujen erilaistumiseen, aksonien ohjautumiseen, solun liikkumiseen, hermosolujen regeneraatioon sekä immuunisolujen aktivaatioon (Velasco-Estevez ym. 2020). Kanavan mahdollistama Ca^{2+} :n sisäänvirtaus saattaa aktivoida myös Ca^{2+} :n vapautumisen solun sisäisistä varastoista. Piezo1 saattaa toimia hermoston tulehduksen laskijana. Lipopolysakkaridi, bakteerien endotoksiini, lisää Piezo1:n määrää astrozyyteissä. Tämä ei tapahdu kaikissa aivokuoren astrozyyteissä, mikä viittaa astrozyyttien erilaisiin rooleihin. Piezo1:n aktivaatio vähentää solujen migraatiota ja estää sytokiiniin ja kemokiiniin vapauttamisen (Velasco-Estevez ym. 2020). ATP:n aikaansaama Ca^{2+} -vaste heikkenee Piezo1:n aktivoituttua, joten kanavan aktivaatiolla voi mahdollisesti olla sekä paikallisia että laajemman alueen muutoksia neurotransmissioon (Velasco-Estevez ym. 2020).

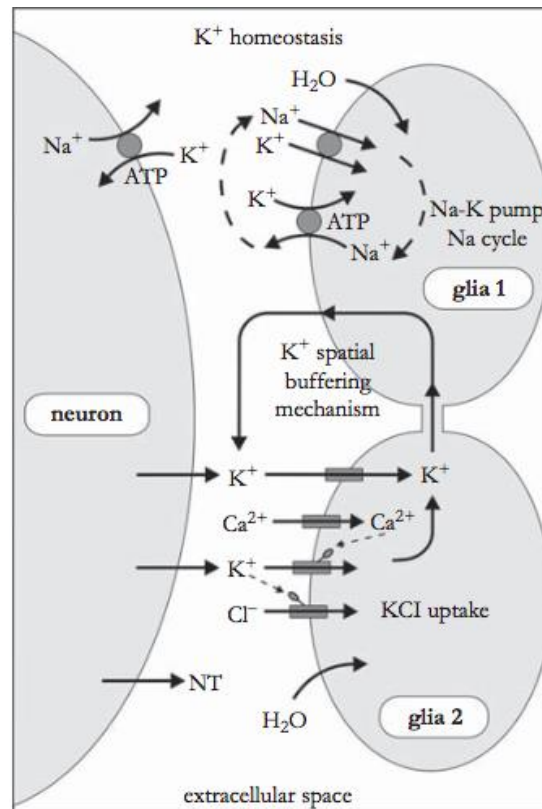
Myös syklistä nukleotideistä riippuvaliset CNG-kationikanavat mahdollistavat kalsiumin kulkeutumisen. Syklisten nukleotidien tasoja astrozyyteissä voivat nostaa monet tekijät, kuten typpioksidi ja natriureettiset peptidit, β -adrenergisten reseptorien ligandit, aivolisäkkeen adenylaattisyklaasia aktivoivat polypeptidit, adenosini ja ATP (Podda ym. 2012). Podda ym. (2012) havaitsivat CNGA2-kanavan aivokuoren astrozyyteissä sekä immunohistokemiallisin menetelmin että elektrofysiologisilla tutkimuksilla, joiden perusteella GMP-riippuvaisia virtauksia havaittiin sekä viljelmissä että *in situ* astrozyyteissä. Näillä kanavilla voi olla tärkeitäkin rooleja astrozyyttien Ca^{2+} -signaaloinnissa ja soluvälitilan homeostaasissa (Podda ym. 2012).

Viimeinen kanavatyyppi, jonka läpi kalsium voi siirtyä, on pelkästään kalsiumia välittävä kanavatyyppi Ca_v , joka aktivoituu solukalvon depolarisoituessa eli solukalvon jännitteen muuttuessa positiivisemmaksi. Havaitut L-tyypin Ca_v -kalsiumkanavat ovat suuresta jännitteestä aktivoituvia kanavia. Vaikka havaintoja tästä kanavatyyppistä on, sen toiminnallinen ilmeneminen astrozyyteissä on puolestaan vielä kyseenalaista (Kettenmann ym. 2013, Verkhratsky ja Nedergaard 2018). Jänniteriippuvaisen kalsiumkanavan kautta soluun kulkeutuvat kalsiumionit säätelevät muun muassa solun metaboliaa, molekyylien eritystä sekä geeniekspressiota (Kettenmann ym. 2013). $\text{Ca}_v1.2$ -kanavan ekspresion on havaittu kasvavan merkittävästi sekä soluviljelmissä, joissa soluja on altistettu ammoniumille, että korkean ammoniakkipitoisuuden eläinmalleissa (Verkhratsky ja Nedergaard 2018).

3.2 Kaliumkanavien tehtävät ja rooli

Yksi astrozyyttien tunnetuista tehtävistä on soluvälitilan kaliumpitoisuuden säätely, mikä on mahdollista lukuisien kaliumkanavien ansiosta. Ionikanavien rooli liittyy sekä kaliumin määrän lisäämiseen että vähentämiseen soluvälitilassa. Kun hermosolut ovat aktiivisia, astrozyytit poistavat kaliumia soluvälitilasta $\text{Na}^+\text{-K}^+$ -pumpun avulla ja myöhemmin lisäävät kaliumia

soluvälitilaan $K_{ir}4.1$ -kanavan kautta, mikä tukee hermosolujen ionigradienttien palauttamista (Verkhratsky ym. 2019). Lisäksi soluvälitilan kaliumpitoisuuden vähentämiseen osallistuvat ionikanavat ovat K^+ -kanava, joka aktivoituu Ca^{2+} -ioneista, sekä K^+ -puskurointiin osallistuvat kanavat, ks. Kuva 3 (Kettenmann ym. 2013). Soluvälitilan kaliumpitoisuuden alentaminen mahdollistaa sen, että hermosolut voivat herkemmin aktivoitua. Kaliumsignaloinnin tutkimista astrozyyteissä on haitannut indikaattorivärien huono signaali-kohinasuhde sekä vaikeakäyttöisyys (Verkhratsky ym. 2019).



Kuva 3. Kuva kaliumin määrän säätelystä soluvälitilassa hermosolun ja gliasolun eli esimerkiksi astrozyytin välillä. (Kettenmann ym. 2013)

K_{ir} -ryhmän kanavilla on merkittävä rooli ionihomöostaasissa. Ne vastaavat etupäässä solukalvojännitteen asettumisesta lähelle kaliumin tasapainopotentiaalia eli potentiaalia, jossa kaliumionin nettovirtausta kalvon puolelta toiselle ei tapahdu (Kettenmann ym. 2013). Erityisesti $K_{ir}4.1$ -kanava on merkityksellinen kaliumin puskurointille ja hermosolujen herkkyyden säätelylle (Kettenmann ym. 2013, Xiong ym. 2019). Se on päätyyppi astrozyyteissä esiintyvistä K_{ir} -luokan kanavista, ja sitä esiintyy verisuonten ja synapsien läheisyydessä olevissa haarakkeissa (Verkhratsky ja Nedergaard 2018). Heteromeerinen $K_{ir}4.1/K_{ir}5.1$ on sensitiivinen pH:lle (Verkhratsky ja Nedergaard 2018). Hapen ja glukoosin puutteen aikana K_{ir} -kanavien inhibointi

johtaa solujen lisääntyneeseen turpoamiseen, joten K_{ir} -kanavat mahdollistavat kaliumin ulosvirtausta tässä tilassa (Benesova ym. 2012). Myös K_2P -luokan kanaville on kuvailtu samanlainen rooli kuin $K_{ir}4.1$ -kanavalle. Kun $K_{ir}4.1$ osallistuu näihin tehtäviin normaalitilassa, K_2P -luokan kanavat taas ovat aktiivisia erityisesti stressitiloissa, kuten iskemian aikana (Minieri ym. 2013, Rivera-Pagán ym. 2015). K_2P -kanavat ovat auki normaalissa kalvopotentialissa (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). K_2P -kanavista TREK-2 aktivoituu usealla tavalla. Se voi aktivoitua monitydyttömättömistä rasvahapoista, solunsisäisestä asidoosista, lämpötilasta, fosforyloinnista ja mekaanisesta venytyksestä (Minieri ym. 2013, Rivera-Pagán ym. 2015). TREK-2-kanavien toiminta kasvaa iskemian aikana, ja niiden toiminta tukee glutamaatin poistamista ja ylläpitää astrosyyttien hyperpolarisoitunutta kalvopotentialia (Rivera-Pagán ym. 2015). On myös ehdotettu, että TREK-1 osallistuisi astrosyyttien tilavuuden säätelyyn TREK-2:n sijaan hapen ja glukoosin puutteen aikana (Benesova ym. 2012). Erot tutkimustuloksissa siinä, osallistuuko TREK-1 vai TREK-2 tilavuuden säätelyyn, voivat johtua muun muassa eri ikäisten eläinten käytöstä, eri tutkimusmenetelmien käytöstä (*in vitro* / *in situ*) ja eri aivovammamallien käytöstä (Benesova ym. 2012). Sekä K_{ir} - että K_2P -kanavat osallistuvat siis solukalvopotentialin muodostumiseen, ja K_2P -kanavat toimivat erityisesti stressitiloissa.

VRAC-inhibiittorilla DCPIB:llä (4-(2-butyl-6,7-dichlor-2-cyclopentylindan-1-on-5-yl) oxobutyric acid) on havaittu olevan TREK-1 ja TREK-2 kanavia aktivoiva vaikutus ja DCPIB on myös neuroprotektiivinen (Minieri ym. 2013). K_2P -luokkaan myös kuuluvan TWIK-1-kanavan inhiboiminen vähentää tietyn astrosyyttipopulaation turpoamista, mikä viittaa siihen, että TWIK-1 osallistuu kaliumin sisäänvirtaukseen (Benesova ym. 2012). TREK-1 kanavan inhibointi taas lisää tietyn astrosyyttipopulaation turpoamista, mikä viittaa kanavan toimimiseen kaliumin ulosvirtauksessa (Benesova ym. 2012). Joissain astrosyyttipopulaatioissa voi siis olla TWIK-1:n ekspressiota ja joissain TREK-1:n ekspressiota, jolloin nämä populaatiot toimivat eri tavoin solun tilavuuden säätelyn osalta (Benesova ym. 2012). On myös tutkimuksia, joissa havaittiin, että TWIK-1-kanavaa ei välttämättä ekspressoita solun pinnalla suuria määriä, koska kanava otetaan solun sisään G-proteiinivälitteisen reitin kautta (Kettenmann ym. 2013). TWIK-1 ei myöskään ole kovin selektiivinen, sillä niiden on näytetty sallivan NH_4^+ -ionin virtaus (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). TREK-ionikanavien kohdalla on myös mahdollista, että ne vapauttavat neurotransmittereita GABA:a ja glutamaattia (Bazargani ja Attwell 2016).

K_{ir} -luokan kanaville ominaista on, että niillä on suuri todennäköisyys olla avoinna sellaisilla jännitteillä, jotka ovat negatiivisempia kuin kalvopotentialia (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Astrosyyttien K_{ir} -kanavien välittämän ionivirran sanotaan usein vähenevän sairauden yhteydessä (Kettenmann ym. 2013), mutta toisaalta on myös havaittu näiden kanavien lisääntyntä ekspressiota (Xiong ym. 2019). Xiong ym. (2019) havaitsivat, että $K_{ir}4.1$ -kanavan ekspressio on

lisääntynyt päälaen aivokuoren astroosyyteissä masennuksen yhteydessä. Masennuksen patofysiologiaan voi liittyä myös $K_{ir}4.1$ -kanavan ja GABA-reseptorin häiriintynyt interaktio (Xiong ym. 2019). $K_{ir}7.1$ -kanava on uusiin löydetty K_{ir} -ryhmän kanava, joka astroosyyteissä lokalisoituu solun soomaan, haarakkeisiin sekä verisuonten läheisyyteen (Papanikolaou ym. 2019). Koska ekspressio verisuonten lähellä on vahvaa, on mahdollista, että $K_{ir}7.1$ liittyy veden homeostaasiin. Papanikolaou ym. (2019) olivat ensimmäisiä, jotka havaitsivat viitteitä siitä, että $K_{ir}7.1$ -kanava voisi olla tärkeä myös astroosyyteissä. Heidän tutkimuksensa tukevat myös $K_{ir}7.1$ -kanavan ja Na^+-K^+ -pumpun kolokalisoitumista, jolloin Na^+-K^+ -pumppu kuljettaisi kaliumia sisään ja kanava päästäisi sitä ulos.

Muista kaliumkanavista BK-kanavien aktiivisuus riippuu kalvopotentialista sekä solunsisäisestä kalsiumionipitoisuudesta, kun taas SK-kanavat ovat riippumattomia jännitteestä (Kettenmann ym. 2013). BK-kanavien on havaittu normaalissa kalvopotentialissa sijoittuvan ensisijaisesti solun sisäisiin kalvorakenteisiin, ja kun sytotolin Ca^{2+} -pitoisuus kasvaa, näiden kanavien ekspressio solukalvolla kasvaa (Podda ym. 2012). Kalsiumioneja voi vapautua solunsisäisistä rakenteista G-proteiinikytkentäisen reseptorin stimulaation seurauksena. SK-kanaviin kuuluvan $K_{Ca}3.1$ -kanavan immunoreaktiivisuus sijoittuu haarakkeisiin verisuonten ympärille sekä haarakkeiden päihin (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Myös BK-kanavien sijainti solussa on samanlainen, ja ne osallistuvat valtimoiden laajentamiseen ja supistamiseen (Kettenmann ym. 2013). Sekä BK- että SK-kanavien aktiivisuus verisuonten läheisissä astroosyyteissä on metabotropisen glutamaattireseptorin ja epoksieikosatrieenihapon vapauttamisen kontrolloimaa (Kettenmann ym. 2013). $K_{Ca}3.1$ -kanavan osallistumisesta neurovaskulaariseen kytkentään on myös näyttöä (Kettenmann ym. 2013).

Jännitteestä aktivoituvat kaliumkanavat (K_v) välittävät kahdenlaista kaliumionin virtausta: K_D (delayed rectifier) ja K_A (transient). Kanavat ovat inaktiivisia tavallisessa kalvojännitteessä ja aktivoituvat depolarisaatiossa. Näiden ionikanavien toiminta peittyy K_{ir} - ja K_2P -kanavien toiminnan alle, sillä K_{ir} - ja K_2P -kanavat välittävät suurempia ionivirtauksia (Kettenmann ym. 2013). Wu ym. (2015) havaitsivat ensimmäisinä, että K_D - ja K_A -kanavien toiminnan estäminen heikensi merkittävästi SOCE:a. Nämä kanavat säätelevät kalsiumsignalointia muuttamalla kalvopotentialia suotuisammaksi kalsiumin liikkumiselle. Molempia kanavatyyppiä tarvitaan, jotta saadaan aikaan riittävä kalvopotentialin säätely (Wu ym. 2015). $K_v3.4$ -kanavan ilmenemisen on havaittu kasvavan astroosyyteissä, jotka ovat $A\beta$ -oligomeerien läheisyydessä ja reaktiivisissa astroosyyteissä Alzheimerin taudissa (Boscia ym. 2017). Boscia ym. (2017) havaitsivat tutkimustensa perusteella, että $K_v3.4$ -kanavan lisääntyminen voi olla Alzheimerin taudissa varhainen tapahtuma. $K_v3.4$ on K_A -luokan kanava. Yleisesti ottaen eri K_v -alajyksiköistä tiedetään varsin vähän (Kettenmann ym. 2013).

K_v -kanavia kuitenkin ekspressoidaan astroosyyteissä runsaasti, vaikkakin niiden roolista ei ole vielä selvyyttä (Wu ym. 2015).

3.3 Anionikanavien tehtävät ja rooli

Astroosyyttien yhteydessä anionikanavilla tarkoitetaan kloridi-ionin kanavia. Kloridilla on useita signalointirooleja solussa. Näihin rooleihin kuuluvat solun proliferaation, differentiaation ja apoptoosin säätely, tilavuuden säätely, ionikanavien muuntaminen (esimerkiksi K^+ - ja TRPM7-kanavien muuntaminen sitoutumalla vielä tunnistamattomiin kanavaproteiinidomeeneihin) sekä signaalikaskadien säätely (esimerkiksi seriini/treoniini -proteiinikinaasit) (Verkhatsky ym. 2019). Myös inhibitorisen transmission ylläpidossa hermostossa kloridi-ionipitoisuudella voi olla tärkeä rooli. Astroosyytit voivat vapauttaa kloridia synapsirakoon, mikä mahdollistaa GABAergisen synapsin toimivuuden.

Clc-2-kanava on jänniteriippuvainen kanava, ja se aktivoituu hyperpolarisaation yhteydessä tai hypotonisen stressin seurauksena (Kettenmann ym. 2013). Clc-kanavien sanotaan olevan sisäänpäin suuntaavia kanavia, mikä tarkoittaa, että ne välittävät Cl^- -ionin virtausta solusta ulos niillä jännitteillä, jotka ovat alle E_{Cl} :n (kloridin tasapainopotentiaalin) (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). Clc2-kanavia on havaittu astroosyyteissä GABA-synapsin presynaptisen terminaalin yhteydessä, mikä viittaa astroosyyttien rooliin Cl^- :n uudelleenjaossa ja GABA-reseptorivälitteisen inhibition tehokkuuden parantamisessa (Kettenmann ym. 2013, Verkhatsky ja Nedergaard 2018).

VRAC-kanavat (volume regulated anion channels) vaikuttavat merkittävästi astroosyyttien tilavuuden säätelyyn (Benesova ym. 2012, Formaggio ym. 2019). Astroosyytit reagoivat hypotoniseen ympäristöön, joka aiheuttaa solun turpoamista, lisäämällä solukalvon läpäisevyyttä aktivoimalla VRAC-ionikanavia (Minieri ym. 2013). Astroosyytit ovat tärkeitä tilavuuden homeostaasin ylläpitäjiä aivoissa, mikä on mahdollista ionikanavien ja akvaporini-4:n ansiosta. Hiljattain on selvinnyt, että VRAC-kanava kuuluu LRRC8-proteiiniperheeseen (leucine-rich repeat containing 8) (Formaggio ym. 2019). Sen lisäksi, että VRAC on tärkeä tilavuuden säätelyssä, sillä on merkitystä myös solun proliferaation, liikkuvuuden ja apoptoosin säätelyssä (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). VRAC-kanavien on havaittu myös päästävän läpi eksitatorisia aminohappoja, kuten glutamaattia (Verkhatsky ja Nedergaard 2018, Formaggio ym. 2019). On joitain havaintoja siitä, että Na^+ :n sytosolinen määrä saattaisi vaikuttaa VRAC:n aktiivisuuteen niin, että lisääntynyt Na^+ :n konsentraatio estäisi VRAC:n toimintaa (Verkhatsky ja Nedergaard 2018). VRAC on nopeasti aktivoituva hyperpolarisoituneissa jännitteissä ja inaktivoituva +40 mV tai isommissa solukalvojännitteissä (Formaggio ym. 2019). Kanavaa löytyy erityisesti haarakkeista verisuonten läheltä (Formaggio ym. 2019). Astroosyyteissä on havaittu eri tavoin hapen ja glukoosin puutteen yhteydessä reagoivia solupopulaatioita, HR- ja LR-astroosyyttejä (high response ja low response),

jotka reagoivat eri tavalla mm. VRAC-inhibiittoriin DCPIB:hen (Benesova ym. 2012). HR-astroosyyteissä inhibiittori vähentää turpoamista, kun taas LR-astroosyyteissä inhibiittori aiheuttaa lisää solun turpoamista. On mahdollista, että HR-astroosyyteissä tilavuuden säätely ei toimi, ja iskemia vaikuttaa niihin voimakkaammin, kun taas LR-astroosyytit pystyvät paremmin säätämään tilavuuttaan VRAC-kanavien kautta (Benesova ym. 2012).

3.4 Akvaporiniinien tehtävät ja rooli

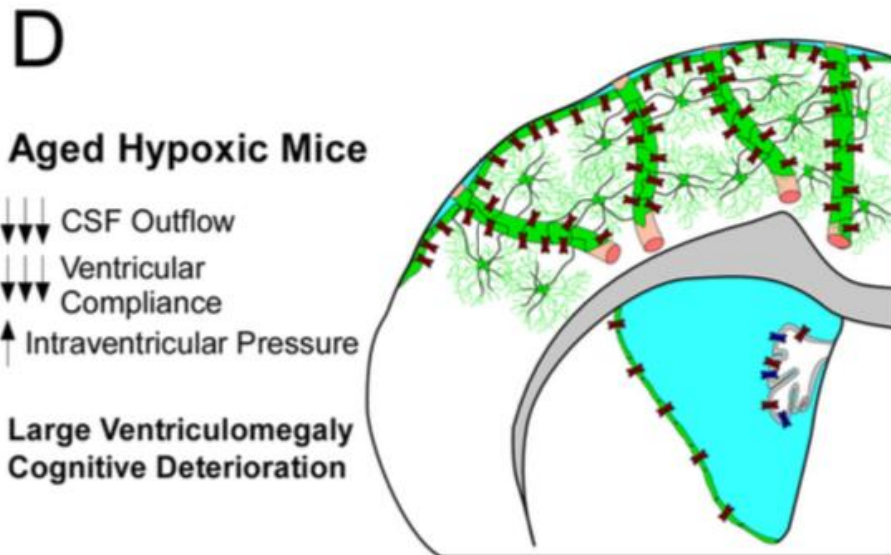
Akvaporiniinit ovat homotetrameerisiä kanavia. Astroosyyteissä AQP4-kanavat lokalisoituvat ensisijaisesti verisuonten läheisyyteen ulottuviin haarakkeisiin, Kir4.1- ja TRPV4-kanavien läheisyyteen (Kettenmann ym. 2013). Vesimolekyylit liikkuvat akvaporiniinien kautta solukalvon läpi osmoottisen gradienttinsa mukaisesti. Kun K^+ -konsentraatio vaihtelee astroosyyteissä ja niiden ympäristössä aktiivisuuden seurauksena, liikkuvat vesimolekyylit ionikonsentraatioiden vaihteluiden mukaisesti.

Akvaporiniineilla on astroosyyteissä tärkeitä tehtäviä aivovammojen jälkeen. Akvaporiniini-4 on ollut mielenkiinnon kohteena, sillä se vaikuttaa mahdollisesti moniin keskushermoston toimintoihin. On myös viitteitä siitä, että AQP5 voi olla tärkeä astroosyyteissä, ja sen ekspressio voi muuttua aivovammojen yhteydessä (Chai ym. 2013). Esimerkiksi iskemiassa AQP5:n ekspression on havaittu vähenevän, kun taas naarmuuntumishaavan yhteydessä astroosyyttien liikkuvissa haarakkeissa sekä pistohaavan yhteydessä kyseisen kanavan ekspression on havaittu lisääntyvän (Chai ym. 2013). Lisääntynyt ekspressio viittaa AQP5:n mahdolliseen rooliin astroosyyttien toiminnassa aivovamman yhteydessä. Naarmuuntumishaavan yhteydessä havaittu AQP5:n lisääntynyt ekspressio kasvatti haarakkeiden pituutta. Chai ym. (2013) havaitsivat myös, että kun iskemian yhteydessä AQP5:n ekspressio laski, niin AQP4:n nousi. Heidän tutkimuksensa perusteella AQP5 ja AQP4 saattavat osallistua astroosyyttien tilavuuden säätelyyn iskemian aikana.

AQP1:n ja AQP4:n ekspressiotasojen on havaittu nousevan häikämyrkytyksen yhteydessä (Li ym. 2019). Häikämyrkytyksen seurauksena syntyy turvotusta, jonka muodostumisessa AQP1 ja AQP4 ovat osallisina. Tätä turvotusta on pystytty vähentämään estämällä p-p38 MAPK -signalointia (Li ym. 2019). p38 MAPK on merkittävä signalointireitti, joka ohjaa AQP4:n ekspressoitumista aivokuoren astroosyyteissä hapen ja glukoosin puutteen yhteydessä. Li ym. (2019) näyttivät ensimmäisinä, että suurin AQP1-pitoisuus havaittiin 24 tuntia hiilimonoksidialtistuksen jälkeen etuaivokuoressa ja tällöin oli myös suurin aivojen vesipitoisuus.

Akvaporiniini-4:llä on tärkeä rooli aivoselkäydinnesteen muodostumisessa, ja se voi olla osallisena iästä riippuvaisen hydrokefaluksen (aivoselkäydinnesteen runsas kertymä aivokammioihin) patofysiologiassa, ks kuva 4 (Trillo-Contreras ym. 2018). Tällöin lisääntynyt AQP4:n ekspressio

astroosyyteissä mahdollistaa aivonselkäydinnesteen kertymisen suoniin. Aivonselkäydinnestettä ei saada poistettua ja myös suonten kimmoisuus on muuttunut. Tämä johtaa hydrokefaluksen muodostumiseen.



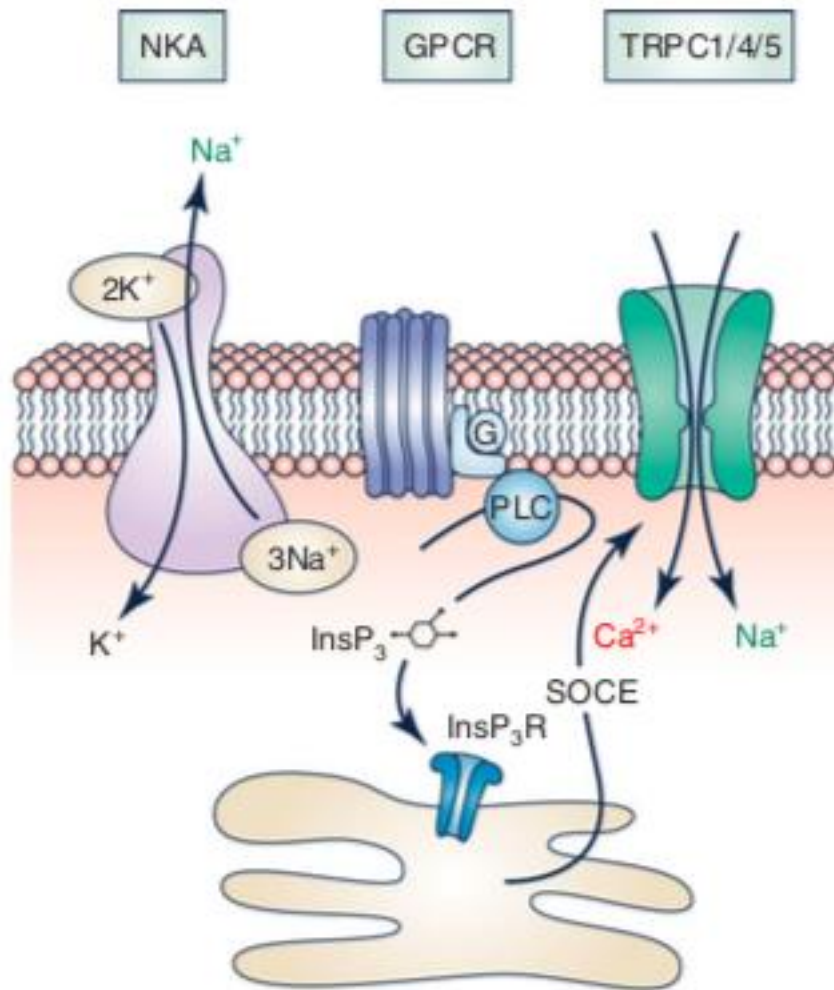
Kuva 4. Malli ikääntyneiden hypoksiaan liittyvästä hydrokefaluksesta. AQP4-kanavat näkyvät tumman punaisina. Astroosyytit näkyvät vihreinä suonten ympärillä. (Trillo-Contreras ym. 2018)

Toinen patologinen tila, jossa akvaporini-4:n on havaittu olevan osallisena, on Alzheimerin tauti. AQP4:llä saattaa olla tärkeä rooli beeta-amyloidin puhdistamisessa (Hoshi ym. 2018). On osoitettu, että AQP4:n puuttuminen johtaa beeta-amyloidin kertymiseen. Glutamaattitransportteri GLT-1 ja akvaporini-4 saattavat muodostaa astroosyyteissä funktionaalisen kompleksin, jolla on neuroprotektiivinen rooli Alzheimerin taudin kehityksessä (Hoshi ym. 2018). Onkin mahdollista, että Alzheimerin taudissa tapahtuu glutamaatti/vesi -homeostaasin häiriintymistä.

3.5 Natriumkanavien tehtävät ja rooli

Natrium pääsee astroosyytteihin aikaisemmin kalsiumin yhteydessä käsiteltujen TRP-luokan kationikanavien kautta. TRP-kanavien aktivoitua natriumia virtaa huomattavasti solun sisälle (Verkhatsky ym. 2019). Kun TRPC-kanavat osallistuvat SOCE-prosessiin, ne yhdistävät metabotropiset reitit ja solulimakalvoston täyttymisasteen natriumin sisäänvirtauksella, ks. Kuva 5. Solunsisäisen natriumpitoisuuden nousu voi vaikuttaa muun muassa transporttereiden toimintaan. NCX-transportteri (natrium-kalsium -transportteri) saattaa kääntää kuljetussuuntaansa vastakkaiseksi.

NCX-transportterin tavoin GABA- tai glysiini-transportterit voivat vaihtaa toimintasuuntaansa. GABA-transportterin kuljetussuunnan on osoitettu kääntyvän neokortikaalisissa astroosyyteissä *in situ*. Sytosolinen Na^+ voi toimia myös Na^+ -sensoriproteiinien kautta, kuten glutamiinisyntetaasin kautta (Verkhatsky ym. 2019). Na^+ voi myös säädellä ionikanavia. Säättely voi tapahtua epäsuorasti, kuten spermiinin kautta tapahtuva $\text{K}_v4.1$ -kanavan inhibiointi ja $\text{G}\beta\gamma$ -riippuvainen Ca^{2+} -kanavien inhibiointi (Verkhatsky ym. 2019).



Kuva 5. Na^+ -ionin sisäänvirtauksen ja SOCE:n yhteys. Natrium kulkeutuu soluun muun muassa TRPC-kanavan kautta SOCE-tapahtuman yhteydessä. Tämä tapahtuu, kun kalsiumia tarvitaan soluun lisää. NKA = Na^+/K^+ -pumppu, GPCR = G-proteiinikytkentäinen reseptori, PLC = fosfolipaasi C, InsP_3 = 1,4,5-inositolitrisfosfaatti, InsP_3R = inositolitrisfosfaattireseptori, SOCE = store operated calcium entry (Verkhatsky ym. 2019).

4. YHTEENVETO

Aivokuoren astrosyyteistä on löydetty ionikanavia kalsiumille, kloridille, kaliumille ja natriumille. Lisäksi vesimolekyyli kulkee akvaporiinien kautta. Kalsiumkanaviin kuuluvat TRP-kanavat TRPC, TRPV, TRPA ja TRPM, Piezo1-kanava, Orai-kanava, CNG-kanavat sekä Ca_v -kanavat. Kloridin liikkumisen kalvon läpi mahdollistavat Cl^- - ja VRAC-kanavat. Kaliumkanavista havaittuja luokkia ovat K_{ir} , BK- ja SK-kanavat, K_2P -kanavat, K_v -kanavat sekä HCN-kanavat. Natrium pääsee liikkumaan joistain samoista kanavista kuin kalium tai kalsium, eli esimerkiksi TRP-kanavista tai HCN-kanavista, ja lisäksi natriumille on oma jänniteriippuvainen Na_v -kanava. Ionikanavalöydöt on tehty pääosin jyrksijöillä eli hiirillä ja rotilla. Muutamissa tutkimuksissa on käytetty kuollutta ihmistä, jolloin havaittiin AQP4- ja $K_{i4.1}$ -kanavat (Hoshi ym. 2018, Xiong ym. 2019). Tutkimukset on toteutettu *in vitro* tai *in situ* eli viljelmillä tai leikkeillä. Joidenkin ionikanavien ilmentymisestä on vahvempaa näyttöä, kuten esimerkiksi TRPC1 (Kettenmann ym. 2013, Belkacemi ym. 2017, Verkhatsky ja Nedergaard 2018), VRAC (Verkhatsky ja Nedergaard 2018, Formaggio ym. 2019) ja AQP4 (Hoshi ym. 2018, Trillo-Contreras ym. 2018, Verkhatsky ja Nedergaard 2018, Li ym. 2019). Epävarmempaa taas on esimerkiksi jänniteriippuvaisten Ca_v - ja Na_v -kanavien toiminnallinen ekspressio (Kettenmann ym. 2013, Verkhatsky ja Nedergaard 2018), vaikka havaintoja näistä onkin.

Ionikanavia tarvitaan astrosyyteissä niihin moniin homeostaattisiin tehtäviin, joita näillä soluilla on. Kalsium vaikuttaa solussa muun muassa proliferaatioon, morfologiaan ja molekyylien eritykseen (Zhang ym. 2016). Astrosyyttien tapauksessa kalsiumpitoisuuden nousu saattaa johtaa gliotransmittereiden vapauttamiseen. Kalsiumia vapautetaan astrosyytteihin SOCE:n yhteydessä eli solun sisäisistä varastoista vapautuneen kalsiumin aktivoitessa solukalvon kalsiumkanavia. Kalsiumkanavia toimii myös osmoregulaatiossa (Kettenmann ym. 2013, Zhang ym. 2016). Kloridi-ionilla on vaikutuksia mm. solun proliferaatioon, differentiaatioon ja apoptoosiin. Astrosyyttien kloridikanavilla on tärkeä rooli hypotonisessa stressissä ja tilavuuden säätelyssä. Kaliumkanavien tärkeimpiä rooleja on osallistua soluvälitilan kaliumin määrän säätelyyn ja astrosyyttien solukalvopotentiaalin muodostumiseen. Osa kaliumkanavista sijoittuu verisuonten läheisyyteen ja säätelee verisuonten laajenemista (Kettenmann ym. 2013). Ionikanavien oikeanlainen toiminta estää sairauksien syntymistä esimerkiksi pitämällä soluvälitilan ionipitoisuuksia sopivina. Toisaalta ionien liikkuminen ionikanavien kautta voi olla osa eri sairauksien syntymekanismeja.

Astrosyyttien ionikanavista on tehty paljon tutkimuksia jo 1990- ja 2000-luvuilla, ja vaikuttaa siltä, että viime aikoina on löydetty täydentävää ja uutta tietoa näistä ionikanavista. Tässä tutkielmassa on käyty läpi uusimpia ionikanavatutkimuksia. Tutkielmassa on tarkasteltu yksittäisiä ionikanavia

ja niiden ominaisuuksia, mutta tämän lisäksi on tärkeää saada tietoa ionikanavien yhteistoiminnasta terveessä ja vaurioituneessa kudoksessa. Ionisignaloinnin tutkimisessa kaliumin osalta vaikeutta on luonut indikaattorivärien huono signaali-kohinasuhde sekä vaikeakäyttöisyys (Verkhatsky ym. 2019). Ionikanavatutkimuksesta on hyötyä paitsi solun fysiologisen toiminnan ymmärtämiselle, myös solun toimintojen matemaattiselle mallinnukselle. Ionikanavatiedoille on tarvetta, kun mallinnetaan astrosyyttien toimintaa. Ionikanavien yhteistoiminnan kuvaukseen tarvitaan matemaattisia ja laskennallisia kuvauksia ionikanavista. Mallinnusta on tarpeen tehdä solulimakalvoston lisäksi solukalvon ominaisuuksista. Ionikanavamalleja on tähän mennessä esitetty lähinnä hermosoluille. Eri kanavaluokkien tunnistaminen on oleellista, sillä yhdelle ionille on useita eri kanavia, joilla voi olla eri rooli solun toiminnassa ja ne voivat aktivoitua eri tavalla.

Tulevaisuudessa ionikanavista olisi hyödyllistä saada *in vivo* -tutkimuksia, vaikka se onkin haasteellista. *In vitro* -olosuhteissa astrosyytit vaikuttavat olevan enemmän reaktiivisessa tilassa verrattuna *in vivo* -olosuhteisiin (Belkacemi ym. 2017). Lisäksi huomioitavaa on, että koe-eläinten ikä saattaa vaikuttaa ekspressoituviin ionikanaviin, ja astrosyyttien ominaisuudet voivat olla erilaisia eri aivoalueilla. Eri aivoalueiden astrosyyttien ionikanavien vertailu onkin asia, jota tulevaisuudessa voi selvittää. Farmakologisten aineiden kehittäminen gliasoluille voisi myös olla tutkimuksen kohde. Tulevaisuuden tutkimuskohteisiin kuuluu lisäksi astrosyyttien roolin selvittäminen synapsien säätelyssä erityisesti patologisissa tiloissa, ja siihen liittyvä gliotransmittereiden mahdollinen vapauttaminen.

LÄHTEET

- Bazargani, N. & Attwell, D. (2016) Astrocyte calcium signaling: the third wave. *Nature Neuroscience* **19**(2), 182.
- Belkacemi, T., Niermann, A., Hofmann, L., ym. (2017) TRPC1- and TRPC3-dependent Ca^{2+} signaling in mouse cortical astrocytes affects injury-evoked astrogliosis in vivo. *Glia* **65**(9), 1535-1549.
- Benesova, J., Rusnakova, V., Honsa, P., ym. (2012) Distinct Expression/Function of Potassium and Chloride Channels Contributes to the Diverse Volume Regulation in Cortical Astrocytes of GFAP/EGFP Mice (Distinct Volume Regulation in Cortical Astrocytes). *PLoS ONE* **7**(1), e29725.
- Boscia, F., Pannaccione, A., Ciccone, R., ym. (2017) The expression and activity of $K_v3.4$ channel subunits are precociously upregulated in astrocytes exposed to $A\beta$ oligomers and in astrocytes of Alzheimer's disease Tg2576 mice. *Neurobiology of Aging* **54**, 187-198.
- Cali, C., Agus, M., Kare, K., ym. (2019) 3D cellular reconstruction of cortical glia and parenchymal morphometric analysis from Serial Block-Face Electron Microscopy of juvenile rat. *Progress in Neurobiology* **183**, e101696.
- Chai, R.C., Jiang, J.H., Kwan Wong, A.Y., ym. (2013) AQP5 is differentially regulated in astrocytes during metabolic and traumatic injuries. *Glia* **61**(10), 1748-1765.
- Diaz, J., Kim, K., Brands, M., ym. (2019) Augmented astrocyte microdomain Ca^{2+} dynamics and parenchymal arteriole tone in angiotensin II-infused hypertensive mice. *Glia* **67**(3), 551-565.
- Formaggio, F., Saracino, E., Mola, M.G., ym. (2019) LRRC8A is essential for swelling-activated chloride current and for regulatory volume decrease in astrocytes. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* **33**(1), 101.
- Hoshi, A., Tsunoda, A., Yamamoto, T., ym. (2018) Altered expression of glutamate transporter-1 and water channel protein aquaporin-4 in human temporal cortex with Alzheimer's disease. *Neuropathology and Applied Neurobiology* **44**(6), 628-638.
- Hubbard, J.A., Szu, J.I. & Binder, D.K. (2018) The role of aquaporin-4 in synaptic plasticity, memory and disease. *Brain Research Bulletin* **136**, 118-129.
- Jiang, L., Ma, D., Grubb, B., ym. (2019) ROS/TRPA1/CGRP signaling mediates cortical spreading depression. *The Journal of Headache and Pain; Official Journal of the "European Headache Federation" and of "Lifting the Burden - the Global Campaign Against Headache"* **20**(1), 1-12.
- Kettenmann, H., Ransom, B.R. & Allen, N.J. (2013) *Neuroglia*. 3 Edition. Oxford University Press. New York.

- Li, J., Jia, M., Chen, G., ym. (2019) Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase in altered expressions of AQP1 and AQP4 after carbon monoxide poisoning in rat astrocytes. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **125**(4), 394-404.
- Minieri, L., Pivonkova, H., Caprini, M., ym. (2013) The inhibitor of volume-regulated anion channels DCPIB activates TREK potassium channels in cultured astrocytes. *British Journal of Pharmacology* **168**(5), 1240-1254.
- Oberheim, N.A., Takano, T., Han, X., ym. (2009) Uniquely hominid features of adult human astrocytes. *The Journal of Neuroscience : The Official Journal of the Society for Neuroscience* **29**(10), 3276.
- Papanikolaou, M., Lewis, A. & Butt, A.M. (2019) Glial and neuronal expression of the Inward Rectifying Potassium Channel Kir7.1 in the adult mouse brain. *Journal of Anatomy* **235**(5), 984-996.
- Podda, M.V., Leone, L., Piacentini, R., ym. (2012) Expression of olfactory-type cyclic nucleotide-gated channels in rat cortical astrocytes. *Glia* **60**(9), 1391-1405.
- Ratnam, M., Chan, J., Lesani, N., ym. (2018) mRNA expression of transient receptor potential melastatin (TRPM) channels 2 and 7 in perinatal brain development. *International Journal of Developmental Neuroscience* **69**, 23-31.
- Rivera-Pagán, A.F., Rivera-Aponte, D., Melnik-Martínez, K., ym. (2015) Up-regulation of TREK-2 potassium channels in cultured astrocytes requires de novo protein synthesis: relevance to localization of TREK-2 channels in astrocytes after transient cerebral ischemia. *PLoS ONE* **10**(4), e0125195.
- Trillo-Contreras, J., Ramírez-Lorca, R., Hiraldo-González, L., ym. (2018) Combined effects of aquaporin-4 and hypoxia produce age-related hydrocephalus. *BBA - Molecular Basis of Disease* **1864**(10), 3515-3526.
- Velasco-Estevez, M., Rolle, S.O., Mampay, M., ym. (2020) Piezo1 regulates calcium oscillations and cytokine release from astrocytes. *Glia* **68**(1), 145-160.
- Verkhatsky, A. & Butt, A.M. (2013) *Glial Physiology and Pathophysiology*. Wiley. Hoboken.
- Verkhatsky, A. & Nedergaard, M. (2018) Physiology of Astroglia. *Physiological Reviews* **98**(1), 239.
- Verkhatsky, A., Untiet, V. & Rose, C.R. (2019) Ionic signalling in astroglia beyond calcium. *The Journal of Physiology* e277478, [Epub ahead of print]
- Volterra, A., Liaudet, N. & Savtchouk, I. (2014) Astrocyte Ca²⁺ signalling: an unexpected complexity. *Nature Reviews Neuroscience* **15**(5), 327.
- Wu, K., Kuo, C., Chao, C., ym. (2015) Role of voltage-gated K⁺ channels in regulating Ca²⁺ entry in rat cortical astrocytes. *The Journal of Physiological Sciences* **65**(2), 171-177.
- Xiong, Z., Zhang, K., Ren, Q., ym. (2019) Increased expression of inwardly rectifying Kir4.1 channel in the parietal cortex from patients with major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders* **245**, 265-269.

Zhang, H., Xiao, J., Hu, Z., ym. (2016) Blocking transient receptor potential vanilloid 2 channel in astrocytes enhances astrocyte-mediated neuroprotection after oxygen–glucose deprivation and reoxygenation. *European Journal of Neuroscience* **44**(7), 2493-2503.