

АКТИВАЦИЯ МЕХАНОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ ИОННЫХ КАНАЛОВ КЛЕТОК K562 В
УСЛОВИЯХ ЭКСТРАКЦИИ МЕМБРАННОГО ХОЛЕСТЕРИНА

Холестерин является одним из основных липидных компонентов плазматической мембраны клеток млекопитающих. Известно, что изменение уровня мембранного холестерина имеет существенное влияние на физические свойства и динамику липидного бислоя мембран: он регулирует текучесть и увеличивает механическую прочность бислоя. В клеточных мембранах холестерин распределен неравномерно. Согласно современным представлениям, в мембране присутствуют так называемые микродомены или рафты – участки, характеризующиеся более плотной упаковкой и повышенным содержанием холестерина [1]. Одним из основных подходов для выявления роли рафтов в сигнальных процессах являются эксперименты в условиях частичной экстракции холестерина.

В электрофизиологических исследованиях показано вероятное участие холестерина и мембранных микродоменов в регуляции некоторых типов ионных каналов. Однако, роль холестерина в функционировании механочувствительных каналов, активируемых при растяжении плазматической мембраны, не исследована, этот вопрос остается открытым. Ранее, в клетках миелоидной лейкемии человека линии K562 были идентифицированы механочувствительные ионные каналы, а также описаны их проводящие свойства [2].

Цель данной работы состояла в изучении влияния частичной экстракции мембранного холестерина на функциональные свойства механочувствительных катионных каналов. На основании результатов электрофизиологических экспериментов проведено сопоставление характеристик механочувствительных каналов клеток K562 в контроле и в условиях деструкции богатых холестерином мембранных микродоменов. Для регистрации ионных токов через каналы плазматической мембраны использовался метод локальной фиксации потенциала (пэтч-кламп). При механической стимуляции путем уменьшения гидростатического давления в регистрирующей стеклянной микропипетке наблюдали быструю активацию ионных токов через механочувствительные каналы (рис. 1).

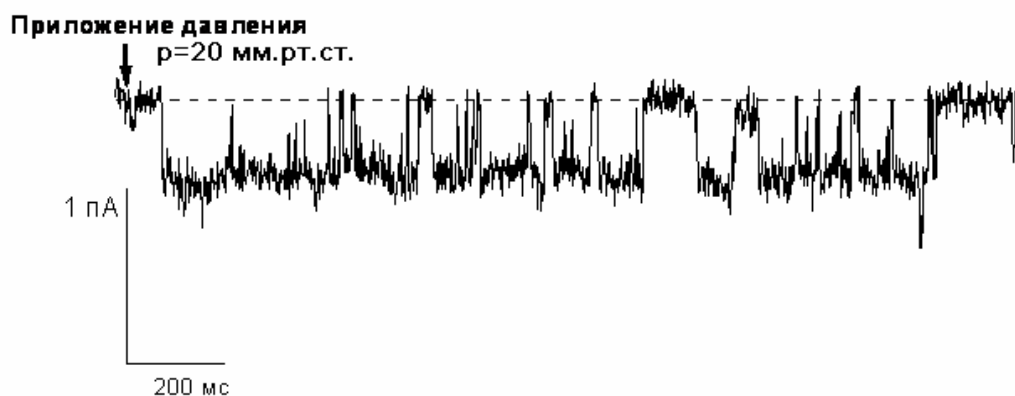


Рис. 1. Активация механочувствительных каналов в плазматической мембране клеток миелоидной лейкемии человека K562 (контрольный эксперимент). Стрелкой показан момент подачи механического стимула

В контрольных экспериментах порог активации, т.е. минимальный уровень давления, необходимый для стимуляции активности каналов, составил около 20 мм рт. ст.

В следующей серии экспериментов была исследована активность каналов в условиях частичной экстракции холестерина (рис. 2). Для этого клетки инкубировали 1 час с метил-

бета-циклодекстрином (5 мМ), олигосахаридом, являющимся селективным акцептором стеролов.

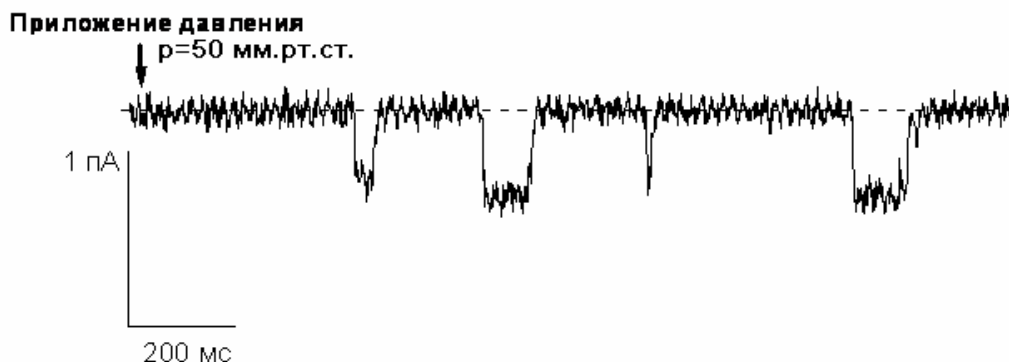


Рис. 2. Активация каналов в клетках K562 после обработки метил-бета-циклодекстрином (5 мМ)

В условиях снижения уровня мембранного холестерина была обнаружена активация механочувствительных каналов с теми же проводящими свойствами, что и в контроле. Однако порог активации составил от 50 до 60 мм рт.ст., что в 2,5-3 раза превышало значения, зарегистрированные в контрольных экспериментах. Кроме того, в модифицированных клетках вероятность пребывания канала в открытом состоянии была значительно ниже.

Таким образом, анализ записей токов через механочувствительные ионные каналы позволяет заключить, что частичная экстракция холестерина приводит к подавлению их активности. Обнаруженные изменения воротных свойств каналов свидетельствуют об изменениях механических свойств мембраны. Она становится более жесткой, менее деформируемой. Однако это не соответствует известной зависимости механических свойств бислоя от содержания холестерина. Возникает вопрос о механизме обнаруженного эффекта. Можно полагать, что он обусловлен участием внутриклеточных структур, в первую очередь кортикального цитоскелета. Экстракция мембранного холестерина создает условия для деструкции микродоменов (рафтов), что может инициировать процессы реорганизации актиновой сети микрофиламентов. Для подтверждения данной гипотезы необходимо продолжение исследований с использованием веществ, избирательно модифицирующих структуры цитоскелета.

Работа выполнена при поддержке РФФИ 05-04-48209.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Pike L.J. 2003. J. Lipid Res. 44: 655–667.
2. Staruschenko A.V., Vedernikova E.A. 2002. J. Physiol. 541: 81-90.