

Секция «Фундаментальная медицина»

Эффекты 5-альфа-холестан-3-она на синаптическую мембрану и
везикулярный цикл в нервно-мышечном соединении лягушки

Касимов Марат Ринатович

Соискатель

Казанский государственный медицинский университет имени С.В. Курашова,

Лечебный факультет, Казань, Россия

E-mail: fiery2000@rambler.ru

Холестерин мембран может окисляться под влиянием активных форм кислорода и ферментов, в результате образуются окси-формы холестерина. Эффекты и биологическая активность многих оксистеролов неизвестны, в том числе 5-альфа-холестан-3-она (5ХН), хотя он присутствует в мембранах *in vivo*. Целью данной работы было изучение влияния оксистерола (5ХН, 200 нМ) на везикулярный цикл в нервном окончании кожно-грудинной мышцы лягушки. Использовали флуоресцентные метки: 22-NBD холестерин, преимущественно распределяющейся в жидкой фазе мембраны, меченную субъединицу В холерного токсина, одновременно взаимодействующую со скоплениями ганглиозида GM1, которые образуются на территории рафтов. Аппликация 5ХН к 20 мин вызывала небольшое снижение флуоресценции 22-NBD-холестерина в синаптических областях, тогда как предварительная обработка 5ХН увеличивала площадь пресинаптической мембраны, которая окрашивалась меченной субъединицей В холерного токсина. Это указывает на изменения свойств мембраны при воздействии 5ХН: уменьшение жидкой фазы, наряду с увеличением содержания рафтов. Для детекции секреции медиатора регистрировали токи концевой пластинки (ТКП) микроэлектродным методом. Оказалось, что, не влияя на амплитуду ТКП в ответ на одиночные раздражения, 5ХН препятствовал развитию депрессии ТКП впервые 30-40 с высокочастотной (20 Гц) активности, а впоследствии скорость падения амплитуды ТКП, наоборот, несколько увеличивалась. Слежение за процессами экзоцитоза осуществлялось с использованием флуоресцентного красителя - FM1-43, который обратимо связывается с мембраной нервных окончаний и во время эндоцитоза оказывается внутри вновь образующихся синаптических везикул, последующая высокочастотная стимуляция приводит к снижению флуоресценции нервных окончаний вследствие выхода красителя при экзоцитозе («выгрузка»). Обработка препарата 5ХН (в течение 20 мин) достоверно замедляла выгрузку красителя, особенно вначале стимуляции. Однако снижение флуоресценции FM1-43 значительно ускорялось, если в среде присутствовал сульфородамин 101, который способен проникать через узкие поры слияния и тушить флуоресценцию FM1-43. Это указывает на протекание на фоне действия 5ХН вначале высокочастотной стимуляции экзоцитоза по механизму kiss-and-run: в этом случае медиатор выходит через пору слияния, обеспечивая возникновение ТКП, а краситель оказывается запертым в везикулу (выгрузка не наблюдается). Работа поддержана грантами РФФИ №11-04-00094-а и МК-108.2013.4.