

Механизмы изменения внутриклеточного кальция при действии 25-гидроксихолестерина

Научный руководитель – Петров Алексей Михайлович

Кузнецова Е.А.¹, Петров А.М.²

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра физиологии человека и животных, Казань, Россия, *E-mail: eva.korshak@mail.ru*; 2 - Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия, *E-mail: fysio@rambler.ru*

В системе иммунитета экспрессия холестерина 25-гидроксилазы индуцируется в макрофагах и дендритных клетках в ответ на лиганды толл-подобных рецепторов и интерферон [2]. В свою очередь, 25-ГХ регулируют иммунный ответ и протекание воспалительных реакций. У пациентов с боковым амиотрофическим склерозом уровень 25-гидроксихолестерина в сыворотке был значительно выше и коррелировал с тяжестью заболевания [1]. Теоретически, 25-ГХ может принимать участие в патогенезе нервно-мышечных заболеваний. Однако о влиянии 25-гидроксихолестерина на нервно-мышечную передачу неизвестно. Ранее мы показали, что 1 мкМ 25-ГХ увеличивает экзоцитоз синаптических везикул в нервно-мышечном синапсе мышцы, при этом в присутствии ингибитора Са-зависимой протеинкиназы С (ПКС) этот эффект устранялся. В данной работе мы фиксировали изменения уровня внутриклеточного кальция (индикатор Oregon Green 488 BAPTA-1 AM) в ответ на 25-ГХ. 25-ГХ (0.1 и 1 мкМ) увеличивал флуоресценцию Ca^{2+} индикатора в синаптическом и экстраинаптическом регионах на 25-30% относительно базового уровня ($n=12$). Для определения механизма увеличения цитозольного Ca^{2+} было оценено изменение Ca^{2+} под влиянием 25-ГХ (1 мкМ) при исключении внеклеточного Ca^{2+} (физиологический раствор без Ca^{2+} и с добавлением кальциевого буфера 1mM EGTA; $n=10$), блокировании рианодиновых рецепторов (20 мкМ дантролен; $n=11$) и в присутствии антагониста инозитол-трифосфатных (ИТФ) рецепторов (50 мкМ ТМВ-8; $n=12$). Только в последнем случае 25-ГХ терял способность повышать уровень Ca^{2+} . Следовательно, активация ИТФ-рецепторов вероятно вовлечена в эффекты 25-ГХ. ИТФ-рецепторы могут стимулироваться при активации мембранных рецепторов, способных активировать фосфолипазу (ФЛС). Потенциальным рецептором для 25-ГХ является ядерный liver X receptor (LXR). Этот рецептор также экспрессируется на плазматической мембране, его лигандами являются некоторые оксистеринны. В присутствии антагониста LXR (10 мкМ GSK2033; $n=8$) действие 25-ГХ было несколько подавлено. Антагонист рецептора GPR183 (1 мкМ NIBR189; $n=7$), являющимся одним из ключевых в индукции В-клеток, не ослаблял действие 25-ГХ. Еще одним рецептором, под влияние которого 25-ГХ может активировать ФЛС, является глутаматный NMDA-рецептор. Однако в присутствии его антагониста (40 мкМ D-AP5; $n=8$) подавление действия 25-ГХ обнаружено не было. Эти данные указывают на возможное вовлечение LX-рецепторов, но не GPR183 и NMDA-рецепторов в эффекты 25-ГХ на внутриклеточный уровень кальция.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-04-00077.

Источники и литература

- 1) Kim S.M. et al. 25-Hydroxycholesterol is involved in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis // *Oncotarget*. 2017, 8(7). p. 11855-11867.

- 2) Zu, S. et al. 25-Hydroxycholesterol is a potent SARS-CoV-2 inhibitor // Cell Research. 2020, 30(11). p. 1043–1045.