

7. Gaus K., Rodriguez M., Ruberu K.R., Gelissen I., Sloane T.M., Kritharides L., Jessup W. Domain-specific lipid distribution in macrophage plasma membranes. *J. Lipid Res.*, 2005, vol. 46, pp. 1526-1538.
8. Миленина Л.С., Крутецкая З.И., Наумова А.А., Бутов С.Н., Крутецкая Н.И., Антонов В.Г. Влияние ингибиторов эпоксигеназ на Ca^{2+} -ответы, вызываемые глутоксимом и моликсаном в макрофагах. *Цитология*, 2015, т. 57, № 7, с. 518-525. [Milenina L.S., Krutetskaya Z.I., Naumova A.A., Butov S.N., Krutetskaya N.I., Antonov V.G. The influence of epoxygenase inhibitors on Ca^{2+} -responses induced by glutoxim and molixan in macrophages. *Tsitologiya*, 2015, vol. 57, pp. 518-525. (In Russ.)]
9. Grynkiwicz G., Poenie M., Tsien R.Y. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem.*, 1985, vol. 260, pp. 3440-3450.
10. Xie Q., Zhang Y., Zhai C., Bonanno J.A. Calcium influx factor from cytochrome P-450 metabolism and secretion-like coupling mechanisms for capacitative calcium entry in corneal endothelial cells. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, pp. 16559-16566.
11. Dionisio N., Galan C., Jardin I., Salido G.M., Rosado J.A. Lipid rafts are essential for the regulation of SOCE by plasma membrane resident STIM1 in human platelets. *Biochim. Biophys. Acta*, 2011, vol. 1813, pp. 431-437.
12. Pani B., Ong H.L., Liu X., Rauser K., Ambudkar I.S., Singh B.B. Lipid rafts determine clustering of STIM1 in endoplasmic reticulum-plasma membrane junctions and regulation of store-operated Ca^{2+} entry (SOCE). *J. Biol. Chem.*, 2008, vol. 283, pp. 17333-17340.
13. Galan C., Woodard G.E., Dionisio N., Salido G.M., Rosado J.A. Lipid rafts modulate the activation but not the maintenance of store-operated Ca^{2+} entry. *Biochim. Biophys. Acta*, 2010, vol. 1803, pp. 1083-1093.

ВЛИЯНИЕ СОСТАВА И СВОЙСТВ ЛИПИДОВ МЕМБРАН НА ИХ ПРОНИЦАЕМОСТЬ ДЛЯ КИСЛОРОДА

Гуськова Р.А., Васильев Н.С., Иванов К.И., Белевич Н.П., Федоров Г.Е., Иванов И.И.
Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова
Ленинские горы, 1, стр. 12, г. Москва, 119234, РФ
e-mail: ivanov36@mail.ru

Аннотация. Кислород – важнейший компонент респираторных газов, занимающий центральное место в аэробной жизни. Однако, механизмы его трансмембранного переноса все ещё изучены недостаточно. Кислород плохо растворяется и в воде, и в липидах мембран (коэффициент распределения $\gamma \sim 1$). Отсюда вытекает, что трансмембранный градиент концентрации кислорода локализуется с двух сторон углеводородной зоны мембран, и этот слой в мембранах является основным барьером, фактически определяющим барьерные свойства мембран для кислорода в целом. Исследование скорости оксигенации эритроцитов методом остановленного потока с двухволновой регистрацией степени окси/дезоксии – перехода с миллисекундным разрешением показало, что коэффициент проницаемости мембран более, чем на два порядка ниже, чем у слоя воды той же толщины. Этот метод сильно осложняют неперемешиваемые слои, появление которых обусловлено необходимостью использования разбавленных суспензий клеток. Другой метод – сканирующий электрохимический микроскоп (СЭХМ) – разработанный и собранный в нашей лаборатории, позволил установить, что сопротивление липидной зоны мембран для диффузии кислорода зависит от состава липидов, плотности их упаковки, количества разветвленных цепей, заряда и объема полярных головок фосфолипидов, а также от присутствия мультивалентных катионов, способных при участии молекул липидов образовывать их димерные и тримерные комплексы в мембранах. Полученные результаты позволяют глубже понять роль липидного компонента мембран в норме, при их адаптации к меняющимся условиям и повреждении токсическими факторами.

Ключевые слова: Трансмембранная диффузия кислорода, мембрана эритроцита, липидные монослои, коэффициент проницаемости для кислорода, СЭХМ.

EFFECT OF LIPID PROPERTIES AND COMPOSITION ON MEMBRANE PERMEABILITY TO DIOXYGEN

Gus'kova R.A., Vasil'ev N.S., Ivanov K.I., Belevich N.P., Fedorov G.E., Ivanov I.I.
Moscow State University, Faculty of Biology
Leninskie gori, 1, building 12, Moscow, 119234, Russia
e-mail: ivanov36@mail.ru

Abstract. Oxygen is the most important respiratory gas playing a central role in aerobic life. However, the mechanisms of its transmembrane flow are not fully understood. Oxygen is poorly dissolved in water and membrane lipids, with partition coefficient $\gamma \sim 1$. Consequently, oxygen transmembrane gradient determines the barrier properties of biological membranes are localized on both sides of the membrane a hydrocarbon zone. Analysis of erythrocyte oxygenation using stop-flow method with dual wavelength detection of oxy-deoxy transition at millisecond resolution showed that membrane permeability to O_2 is more than two orders of magnitude lower than that of water layer of the same thickness. This method of measurement is complicated by the presence of unstirred layers in diluted cell suspensions. Therefore, we developed another method in our laboratory based on scanning electrochemical microscopy

(SECM), which allowed us to determine that the resistance of membrane lipid layer to O₂ diffusion depends on lipid composition, their packing density, the presence of branched chains, charge and volume of phospholipid heads and the presence of monovalent cations forming dimer and trimer complexes with lipids in membranes. These results contribute to a better understanding of membrane lipids under normoxic conditions, their response to changing oxygen environment and toxic damage.

Keywords: Dioxygen diffusion, erythrocyte membranes, lipid monolayers, dioxygen permeability coefficient, SECM.

Основной концепцией трансмембранного переноса кислорода, простых газов, малых незаряженных и заряженных частиц, красителей и ионов через биологические мембраны до последнего времени является модель растворения-диффузии, известная как правило Мейера-Овертона [1]. Это правило предлагает находить плотность трансмембранного потока J по его интенсивности в липидном бислое, используя диффузионный закон Фика и вычисляя разность концентраций частиц в бислое от одного его края до другого, используя коэффициент распределения частиц между углеводородной (липидной) фазой и водой:

$$J = -D^m \gamma \Delta C / h = -P^m \Delta C \quad \text{при: } P^m = D^m \gamma / h. \quad (1)$$

где P^m – коэффициент проницаемости липидного бислоя мембран для частицы; D^m – коэффициент диффузии частицы в липидном бислое вдоль оси x ; h – толщина бислоя; γ – коэффициент распределения частиц между липидным слоем мембраны и водной фазой вблизи мембраны ($\gamma = C'/C$); $\Delta C' = \gamma C_1 - \gamma C_2 = \gamma \Delta C$ – разность концентраций кислорода в липидном слое мембраны от одного его края до другого; $\Delta C = (C_1 - C_2)$ – разность концентрации частицы в водных фазах с двух сторон мембраны.

Среди исследованных к настоящему времени гидрофильных и липофильных соединений и газов, проникающих путем простой диффузии через мембраны, величина γ меняется на ~ 8 порядков. Примерно на 4 порядка в обе стороны от единицы. Согласно уравнению 1, зависимость P^m от γ носит линейный характер. Однако, в обобщенном виде экспериментальная зависимость $\lg P^m$ от $\lg \gamma$ близка к параболической с вершиной при $\gamma \sim 1$ [2]. Наиболее изучена восходящая ветвь параболы, образованная соответствующими коэффициентами для гидрофильных молекул электролитов (ионов) и некоторых неэлектролитов. Положение точек, образующих эту ветвь параболы, определяется величиной энергетического барьера (барьер 1) переноса (растворения) гидрофильных соединений из внешней полярной фазы (вода) в неполярную (липидную) фазу мембраны. Чем меньше γ , тем ниже проницаемость (см. уравнение 1). Формальное описание энергетики перехода молекул неэлектролитов и газов через 1-ый барьер все ещё не завершено. Это обусловлено разнообразием проникающих молекул, различиями их зарядов и полярных свойств, сложной зависимостью высоты барьера от его структуры, состава и свойств липидных компонентов мембран, недостаточной информацией о временном и пространственном характере изменения диэлектрических свойств барьеров и др. Наиболее ясным и разработанным фактором формирования барьера 1 является энергия дегидратации заряженных и полярных групп. В наиболее наглядном виде изменение свободной энергии дегидратации ΔW при межфазной диффузии частиц дано в рамках электростатической теории Борна на примере переноса простых ионов радиусом r из воды в липиды мембран:

$$\Delta W = (1/\epsilon_s - 1/\epsilon_m) z^2 e^2 / 2\pi \epsilon_0 r, \quad (2)$$

где ϵ_s и ϵ_m – относительные диэлектрические проницаемости воды и углеводородной зоны мембран; ϵ_0 – абсолютная диэлектрическая проницаемость (вакуума); z и e – валентность иона и заряд электрона. Для подавляющего числа ионов и гидрофильных электролитов высота этого барьера более, чем на два порядка превышает энергию тепловых колебаний (тепловой диффузии).

Нисходящая ветвь параболы (зависимость $\lg P^m$ от $\lg \gamma$) обусловлена липофильными частицами, для которых основной барьер расположен с другой стороны мембраны, на выходе этих частиц из углеводородной зоны мембраны в водную фазу (барьер 3). Здесь перенос частиц происходит из фазы с низкой в фазу с высокой диэлектрической проницаемостью. В отличие от барьера 1, изменение свободной энергии при этом переходе возрастает с увеличением γ . В результате, липофильные молекулы, легко проникая в липидный слой мембраны через барьер 1, трудно преодолевают барьер 3 по другую сторону мембраны. Теоретическое описание барьера 3 также разработано недостаточно. Фактически предложены лишь эмпирические уравнения скорости транспорта крайне липофильных молекул, в которых сложным образом учитывается степень гидрофобности транспортируемых частиц. Важно подчеркнуть, что и 1-ый и 3-ий барьеры расположены снаружи от липидного бислоя мембран, в слое полярных головок липидов. Падение приложенного градиента может происходить и в прилегающих слоях молекул водной фазы (неперемешиваемых слоях). Из вышесказанного следует, что барьерные свойства собственно липидного бислоя мембран (барьер 2) будут доминирующими, если при трансмембранном переносе будут минимизированы потери градиента при переходе через 1-ый и 3-ий барьеры, а также через неперемешиваемые слои. Эти условия выполняются при мембранном транспорте молекул и газов, имеющих $\gamma \approx 1$, к которым относится молекулярный кислород.

Молекула кислорода не заряжена и не полярна; ее постоянный дипольный момент практически равен нулю, низка поляризуемость $\alpha \sim 1,57 \cdot 10^{-24} \text{ см}^3$ и достаточно высок потенциал ионизации $I \sim 12,2$ эВ. В обычных условиях кислород слабо взаимодействует как с водой, так и с неполярными углеводородами. В результате он сравнительно плохо растворяется в этих средах. В равновесии при нормальных условиях коэффициент распределения кислорода в двухфазной объемной системе: длинноцепочечные углеводороды / вода, составляет ~ 10 . Эту величину часто используют в качестве коэффициента распределения кислорода между липидами

клеточных мембран и водной фазой. Между тем, такое заключение представляется недостаточно корректным. Растворимость кислорода в псевдофазе, образованной плотно упакованными углеводородными цепями жирнокислотных остатков липидов в мембранных, должна быть ниже, чем в неструктурированных объемных фазах (маслах), поскольку последние содержат сравнительно много межмолекулярных свободных объемов (дефектов). Эти представления согласуются с результатами МД-расчетов, из которых следует, что кислород локализуется в мембране преимущественно в зоне полярных головок липидов, содержащей повышенное число дефектов, и в разупорядоченном центре бислоя, где контактируют терминальные группы противоположащих углеводородных цепей. В зонах же, образованных плотно упакованными участками жирнокислотных цепей в мембранах, число дефектов и концентрация растворенного кислорода существенно ниже. Таким образом липидная зона мембран гетерогенна (по глубине) по способности растворять кислород, а экспериментально найденные величины коэффициентов распределения представляют собой в той или иной степени усредненные значения. К сожалению, надежное определение коэффициента распределения кислорода в системе мембранные липиды/вода чрезвычайно сложная и все еще до конца не решенная экспериментальная задача. Появляющиеся в литературе новые оценки величин коэффициентов распределения кислорода в системе липиды мембран/вода постепенно снижаются до 4 – 3 и даже 2. В дальнейшем для простоты мы будем использовать достаточно реальное допущение о том, что коэффициент распределения кислорода в системе липиды мембран/вода близок к единице ($\gamma \sim 1$). То есть будем полагать, что в равновесии концентрации растворенного кислорода в водной фазе, окружающей мембраны (C_{O_2}), и в липидном бислое мембран (C'_{O_2}), близки ($C'_{O_2}/C_{O_2} = \gamma \sim 1$).

Отсюда следует, что приложенный к объемным водным фазам с двух сторон мембраны градиент концентрации кислорода практически целиком падает внутри липидного слоя мембран, а отмеченные выше многокомпонентные трудно интерпретируемые энергетические барьеры 1 и 3 минимизированы и существенно не влияют на плотность его диффузионного потока. Это означает, что плотность упаковки липидной зоны мембран, ее состав и действие других факторов, модифицирующих диффузионные свойства бислоя прямо влияют на интенсивность трансмембранных потоков кислорода. И напротив, для молекул и частиц, коэффициент распределения которых более, чем на два порядка отличается от единицы, подавляющая часть приложенного к водным фазам с двух сторон мембраны градиента их концентрации теряется на преодоление 1-го или 3-го барьеров зоны полярных головок. Таким образом, близкая к единице величина коэффициента распределения молекулярного кислорода в системе мембранные липиды/вода обеспечивает этой молекуле особое место в ряду транспортируемых молекул газов и неэлектролитов, которое определяется следующим:

1. Основная часть трансмембранного градиента O_2 прилагается внутри мембраны к её липидному бислою от одного его края до другого.
2. Центральным параметром, определяющим диффузионное сопротивление бислоя для O_2 является коэффициент его трансмембранной диффузии в липидах мембран, D^m .
3. Влияние на диффузионный поток O_2 сложно интерпретируемых примембранных энергетических барьеров (1-го и 3-го) минимизировано. Таким образом липидный слой мембран представляет собой основное препятствие трансмембранного диффузионного переноса кислорода и любое изменение его диффузионной подвижности в этом слое будет вызывать изменение плотности трансмембранного потока кислорода.

Исходя из высказанных положений мы исследовали скорость трансмембранного переноса кислорода через мембрану эритроцитов человека. Скорость поглощения O_2 эритроцитами существенно ниже, чем скорости химической реакции его взаимодействия с гемоглобином в клетке [3]. В связи с этим, скорость трансмембранного переноса кислорода определяли по скорости оксигенации эритроцитов методом остановленного потока с двухволновой регистрацией степени окси/дезоксигемоглобина на приборе с миллисекундным временным разрешением (в нашем случае AmincoDW-2) [4]. Важно, что при получении дифференциального сигнала минимизируется влияние светорассеяния на кинетические кривые. Показано, что коэффициент проницаемости мембран эритроцитов на два - три порядка ниже, чем у слоя воды той же толщины [5]. Изучение особенностей действия соединений ртути и других токсических и многовалентных катионов на трансмембранный перенос кислорода через мембрану эритроцитов позволило установить, что ингибирование кислородного транспорта не является результатом ингибирования аквапоринов. Иными словами, белковые каналы (аквапорины) не играют существенной роли в транспорте кислорода через мембрану эритроцитов. Аналогичные результаты получены на эритроцитах петухов, мембраны которых не содержат аквапорин 1. Все это позволяет предполагать, что изменение плотности трансмембранного потока кислорода через эритроцитарную мембрану обусловлено регуляцией диффузионных свойств липидного слоя мембраны.

Углеводородная зона мембран представляет собой специфическую структуру, близкую к ориентированному полиэтилену (... - $CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_2 - CH_2 - \dots$). В пленках полиэтилена объемная структура формируется за счет слабых сил когезии между цепями и переплетения цепей. Гидрофобность этих структур обеспечивает их низкую проницаемость для воды. Кислород же сравнительно легко проникает путем простой диффузии между рыхло упакованными углеводородными цепями. Появление боковых заместителей в этих цепях в виде метильных групп (не образующих мостики между цепями, а лишь расталкивающих их), присоединенных прямо или через метиленовые звенья (1-3 звена) к основной цепи, раздвигает соседние цепи и делает сформированные ими структуры еще более проницаемыми для кислорода. С другой стороны, боковые заместители, образующие связывающие мостики между соседними цепями и сближающие их (например, OH – группы, обеспечивающие водородное связывание между цепями), напротив, резко снижают проницаемость образованных ими пленок для кислорода. Газобарьерные свойства таких пленок быстро нарастают при

увеличении количества ОН – групп между цепями. Так, коэффициент проницаемости для кислорода пленок сополимера этилена и винилового спирта (при изменении их соотношения от 0 до 3:7) уменьшается примерно на 4 порядка. Для сравнения, проницаемость таких пленок для кислорода близка к проницаемости алюминиевой фольги той же толщины.

Жирнокислотные остатки фосфолипидов в мембранах также представляют собой регулярно упакованные метиленовые цепи, плотность упаковки которых определяется латеральным давлением. В мембранах это давление обусловлено гидрофобным взаимодействием, электростатическими силами взаимодействия зарядов полярных головок, соотношением площадей сечения головок и жирнокислотных цепей, степенью их ненасыщенности, количеством холестерина и др. Эти взаимодействия стремятся минимизировать площадь контакта водной и углеводородной фаз. Перенос кислорода через такие структуры также происходит путем простой диффузии и не требует присутствия или формирования поры в мембране, если подвижность цепей велика. Следует ожидать, что при уплотнении мембраны или при уменьшении подвижности цепей, диффузионное сопротивление мембран для малых незаряженных молекул (в том числе кислорода) будет нарастать. Действительно, ранее при изучении проницаемости монослойных мембран для кислорода мы обнаружили [6], что при увеличении латерального давления, уплотняющего монослой, его коэффициент проницаемости уменьшался. В природных мембранах латеральное давление, оцениваемое по величине площади занимаемой полярными головками, – величина трудно регулируемая и слабо зависящая от внешних факторов. Важным исключением из этого является эритроцит, прохождение которого через микрокапилляры сопровождается растяжением площади мембраны и, возможно, снижением её трансмембранного диффузионного сопротивления для кислорода. Уплотнение углеводородной зоны биологических мембран с помощью водородных мостиков в природе практически не встречается. Формирование же молекулярных агрегатов (при действии $HgCl_2$ и других соединений ртути, а также других многовалентных катионов), ограничивающих латеральную подвижность молекул фосфолипидов мембран, с нашей точки зрения, в результате rigidification phenomena приводит к снижению проницаемости мембран для малых молекул, в том числе кислорода [7].

Выше мы отмечали, что боковые метильные заместители в основной цепи разрыхляют углеводородную зону и увеличивают ее проницаемость для кислорода. Отсюда мы полагаем, что содержащие боковые метильные заместители фитольные цепи молекул хлорофилла, погруженные в углеводородный слой мембран, увеличивают проницаемость мембран для кислорода. Возможно, это позволяет фотосинтетическим мембранам нормально функционировать без участия специальных кислородных каналов.

Для проверки высказанных предположений мы использовали автоматизированный приборный комплекс – сканирующий электрохимический микроскоп (СЭХМ), разработанный и собранный в нашей лаборатории, позволяющий исследовать влияние состава липидов и действие модифицирующих факторов на плотность диффузионного кислородного потока через углеводородную (липидную) монослойную мембрану на границе раздела воздух/вода. С его помощью было установлено:

1. Диффузионное сопротивление мембраны зависит от величины латерального давления. Оно увеличивается при возрастании давления и уменьшается при снижении давления в слое [8].

2. Фосфолипиды на основе разветвленных цепей (монофитаноилы и дифитаноилы) формируют мембранные структуры с низким сопротивлением для кислорода. Добавление этих соединений в небольших концентрациях (не более единиц процентов) резко снижает сопротивление обычных фосфолипидных мембран.

3. Исследованы барьерные свойства мембран в зависимости от заряда и объема полярных головок фосфолипидов, а также от присутствия многовалентных катионов, способных формировать димерные и тримерные комплексы липидов в мембранах. Полученные результаты позволяют глубже понять роль липидного компонента мембран в норме, при их адаптации к меняющимся условиям и повреждении токсическими факторами.

В последние годы для моделирования липидных бислоев, находящихся при комнатных температурах в жидкокристаллическом состоянии, используют синтетический липид дифитаноилфосфатидилхолин. Этот липид, обладая высокой гидрофобностью и электрическим сопротивлением, оказался весьма эффективным для решения широкого круга задач мембранной электрохимии. Однако, его использование для изучения проницаемости мембран для кислорода некорректно, так как по рассмотренным выше причинам кислород легко проникать через этот липид. В частности, в экспериментах с использованием синглетного кислорода в качестве кислородного зонда, полученные значения коэффициента проницаемости мембран для кислорода сильно завышены, поскольку были использованы мембраны из дифитанолифосфатидилхолина.

Список литературы / References:

1. Missner A., Pohl P. 110 Years of the Meyer-Overton Rule: Predicting Membrane Permeability of Gases and Other Small Compounds. *ChemPhysChem*, 2009, vol. 10, pp. 1405-1414.
2. Peneston J.T., Beckett L., Bntiel D.L. Passive permittation of organic compounds through biological tissue: a non-steady-state theory. *Mol. Pharmacol.*, 1969, vol. 5 (4), pp. 333-341.

3. Coin J.T., Olson J.S. The Rate of Oxygen Uptake by Human Red Blood Cells. *The Journal of Biological Chemistry*, 1979, vol.25, pp. 1178-1190.
4. Mjrow J.I. A New High Resolution Stopped-Flow Apparatus. *Chemical Instrumentation*, 1970, vol. 2 (4), pp. 375-387.
5. Hartridge H., Roughton F.J. The rate of distribution of dissolved gases between the red blood corpuscle and its fluid environment. *J. Physiol.*, 1927, vol. 62, pp. 232-242.
6. Ivanov I.I., Fedorov G.E., Gus'kova R.A., Ivanov K.I., Rubin A.B. Permeability of lipid membranes to dioxygen. *BBRC*, 2004, vol. 322, pp. 746-750.
7. Delnomdedieu M., Boudou A., Desmazès J.P., Georgescauld D. Interaction of mercury chloride with the primary amine group of model membranes containing phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine. *Biochim. Biophys. Acta*, 1989, vol. 986 (2), pp. 191-199.
8. Ciani H., Burt D.P., Daniele S., Unwin P.R., Effect on Surface Pressure on Oxygen Transfer across Molecular monolayers at the Air/Water Interface. *J. Phys. Chem.*, 2004, vol. 108, pp. 3801-3809.

ПУРИНЕРГИЧЕСКИЕ РЕЦЕПТОРЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА

Котова П.Д., Колесникова А.С., Черкашин А.П., Рогачевская О.А., Колесников С.С.

Институт биофизики клетки РАН

г. Пущино, Россия

e-mail: polinakotova88@gmail.com

Аннотация. Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой гетерогенную популяцию пролиферирующих недифференцированных клеток, которые способны давать начало различным линиям клеток мезенхимного происхождения. Несмотря на значительный прогресс в исследовании МСК, текущие представления об их рецепторных и сигнальных системах весьма ограничены. В данной работе показано, что АТР и другие агонисты пуринаргических рецепторов (АДР, УТР, УДР) стимулируют Ca^{2+} сигнализацию в МСК, выделенных из жировой ткани человека. Спектр эффективных агонистов и незначительное влияние наружного Ca^{2+} свидетельствовали о ключевой роли в этих ответах P2Y рецепторов. Методом ОТ-ПЦР в популяции МСК выявлена экспрессия P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆ рецепторов. В индивидуальных же МСК эти рецепторы функционируют в различных комбинациях, а основную роль в генерации Ca^{2+} -ответов на пуринаргические агонисты играют P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄ рецепторы.

Ключевые слова: мезенхимные стромальные клетки, пуринаргические рецепторы.

PURINORECEPTORS IN HUMAN MESENCHYMAL STROMAL CELLS

Kotova P.D., Kolesnikova A.S., Cherkashin A.P., Rogachevskaja O.A., Kolesnikov S.S.

Institute of Cell Biophysics, Russian Academy of Sciences

Pushchino, Russia

e-mail: polinakotova88@gmail.com

Abstract. Mesenchymal stromal cells (MSCs) represent a heterogeneous population of proliferating non-differentiated cells that capable of originating a variety of mesenchymal cell lineages. Despite tremendous progress in MSC biology, current knowledge on receptor and signaling systems of MSCs is mediocre. Here we showed that ATP and other purinergic agonists, including ADP, UTP, UDP stimulate Ca^{2+} signaling in a subpopulation of MSCs derived from the human adipose tissue. The rank of agonist efficacies and negligible influence of extracellular Ca^{2+} on cellular responses argued that purinergic transduction in MSCs largely involved P2Y receptors. By the RT-PCR analysis revealed expression of P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄, P2Y₆ purinoreceptors in MSC. In individual MSC these receptors function in different combinations, but the main role in generation Ca^{2+} -responses to purinergic agonists play P2Y₁, P2Y₂, P2Y₄ receptors.

Key words: mesenchymal stromal cells, purinoreceptors.

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой недифференцированные мультипотентные клетки, популяция которых поддерживается за счет пролиферации, и которые способны дифференцироваться в клетки как минимум костной, хрящевой и жировой тканей [1, 2]. МСК могут быть выделены из многих тканей взрослого организма, однако основными их источниками служат костный мозг и жировая ткань.

На сегодняшний день МСК интенсивно исследуются, однако, большинство работ по их исследованию посвящены оценке их трансплантационного потенциала, исследованию механизмов, инициирующих и направляющих их дифференцировку и анализу возможности управлять этими процессами *in vitro*. Гораздо меньше внимание уделяется фундаментальным исследованиям сигнальных процессов в этих клетках. В силу этого существующие представления о рецепторных и сигнальных системах МСК весьма ограничены.

Известно, что повреждение тканей ассоциируется с выбросом большого количества АТР во внеклеточную среду, а внеклеточный АТР и продукты его последовательного гидролиза эктонуклеотидазами – АДР и аденозин – являются первичными медиаторами, вовлеченными в межклеточные коммуникации и паракринные и аутокринные регуляции в самых разнообразных клеточных системах организма [3, 4]. Поэтому можно ожидать,