

Вплив нікотину на функціонування катіонних каналів великої провідності ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів

О. Тарнопольська, О. Котик, А. Котлярова, С. Марченко

tarnopolskaolga@gmail.com

Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України,
м. Київ, Україна

Ядро еукаріотичної клітини оточене подвійною мембраною, яка містить транспортувальні системи для забезпечення функцій ядра. Зокрема в каріолемі є наскрізні ядерні пори для транспорту великих молекул між ядром та цитоплазмою, а також у зовнішній та внутрішній мембранах експресуються численні іонні канали, які забезпечують зв'язок перинуклеарного простору із цитоплазмою та каріоплазмою.

За допомогою методу *patch-clamp* у нашій лабораторії було зареєстровано струми крізь катіонні канали високої провідності (LCC-канали — *large-conductance cation channels*) в ядерних мембранах нейронів Пуркінє мозочка (Marchenko et al., 2005). Згодом канали з такими ж характеристиками було зареєстровано і в ядерній мембрані кардіоміоцитів (Kotyk, 2016). Це селективні до одновалентних катіонів потенціалозалежні канали, їхня фізіологічна роль у клітині залишається невідомою. Для її з'ясування ми провадимо пошук специфічного блокатора цих каналів. На основі наших попередніх досліджень встановлено, що деякі речовини з класу блокаторів н-холінорецепторів — наприклад, тубокурарин, атракуріум, дитилін тощо — ефективно інгібують досліджувані канали, тоді як агоністи цих рецепторів — ацетилхолін та карбахолін — не чинять жодного впливу на LCC-канали (Котик та ін., 2017). Враховуючи це, ми вирішили дослідити вплив чергового представника н-холіномодуляторів нікотину, природнього агоніста н-холінорецепторів, на функціонування LCC-каналів ядерної мембрани нейронів Пуркінє мозочка та кардіоміоцитів, що й стало метою цієї роботи.

Дослідження виконали на 3–4-тижневих щурах ліній Вістар та Фішер. Ізольовані ядра нейронів Пуркінє мозочка і кардіоміоцитів виділяли гомогенізацією, як описано раніше (Marchenko et al., 2005; Котик та ін., 2018). Струми крізь окремі іонні канали внутрішньої ядерної мембрани реєстрували, використовуючи метод *patch-clamp* у конфігурації «nucleus-attached» або «excised patch» у режимі фіксації потенціалу. Значення показників отримували за допомогою підсилювача *Visual-Patch 500* («Bio-Logic», Франція). Основною досліджуваною характеристикою є середня амплітуда струму, який проходить через канал, ймовірність перебування каналів у відкритому стані (P_o) і виникнення ефекту миготіння. Отримані результати проаналізували за допомогою програми *Clampfit 10.3*. Для графічного їх зображення використовували *OriginPro 9.0*. Вірогідність різниці оцінювали на основі *t*-критерію Стюдента (* — $P \leq 0,05$, ** — $P \leq 0,01$, *** — $P \leq 0,001$).

Ми з'ясували, що нікотин значно пригнічував активність LCC-каналів і зменшував ймовірність перебування каналів у відкритому стані. Вже за концентрації 0,01–0,2 ммоль/л спостерігали дозозалежне зменшення амплітуди струму через LCC-канали ядерної мембрани нейронів Пуркінє, а за дії 0,2 ммоль/л нікотину амплітуда струму зменшилася на 50% ($n=3$) порівняно з контролем. Спостерігали також ефект миготіння каналу — швидкі послідовні спроби відкритого каналу закритися, що свідчить про механічне блокування пори каналу. За умов аплікації нікотину у камеру ефективність блокування ним LCC-каналів виявилася більш вираженою за негативних значень прикладеного потенціалу.

Серед усіх перевірених нами раніше речовин з ряду модуляторів н-холінорецепторів нікотин чинив найефективнішу інгібувальну дію, причому ця речовина була єдиною серед перевірених агоністів, яка подіяла на LCC-канали.