

SZTEROLOK ÉS ZSÍRSAVAK DIPÓLPOTENCIÁLRA GYAKOROLT HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA ÚJ, NAGY ÁTERESZTŐKÉPESSÉGŰ ÁRAMLÁSI CITOMETRIÁS MÓDSZERREL

Szabó Máté¹, Zákány Florina, Cs. Szabó Bence, Varga Zoltán, Panyi György, Nagy Péter¹, Kovács Tamás

Debreceni Egyetem Általános Orvostudományi Kar Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

A DP kb. +300 mV-os intramembrán potenciál, melynek nagyságát elsősorban a membrán lipidösszetétele, főleg szteroltartalma határozza meg. Így a koleszterin, illetve 7DHC felhalmozódásával járó HC-ban, illetve SLOS-ban feltételezhető patofiziológiailag releváns növekedése. A DP jelentősen befolyásolhatja a transzmembrán fehérjék működését, sejtfunkciókra gyakorolt hatásai azonban jórészt ismeretlenek. Ennek hátterében főleg két tényező áll: egyrészt nem áll rendelkezésre olyan technika, amellyel nagyszámú, egyedül élő sejt DP-ja mérhető; másrészt nincs jelenleg ismert hatékony és fiziológiás mód a DP csökkentésére.

Munkánk során ezért THP-1 monocitoid és JY limfoblasztoid sejteket kezeltünk különböző szterolok (koleszterin, 7DHC és 6KC), illetve zsírsavak (telített SA, ω -3 ALA és ω -6 GLA) segítségével, majd meghatároztuk a DP nagyságát. Ehhez egyrészt referencia módszerként feszültségszenzitív di-8-ANEPPS fluorofórt és spektrofluorimetriát alkalmaztunk, másrészt egy általunk kidolgozott, F66 festéken és áramlási citometrián alapuló technikát használtunk.

Eredményeink alapján a DP növelésére leggyakrabban alkalmazott 6KC, a HC-ban felhalmozódó koleszterin, valamint az SLOS-ban akkumulálódó 7DHC dózisfüggően növelte a DP nagyságát, bár eltérő mértékben (6KC>koleszterin>7DHC). A HC kiegészítő terápiájában használt ω -3 ALA dózisfüggően csökkentette, míg a telített SA kismértékben növelte a DP-t. Várakozásainkkal ellentétben az ω -6 GLA szintén emelte a DP nagyságát. Kombinált alkalmazás esetén az ω -3 ALA ellensúlyozta, míg a ω -6 GLA és SA felerősítette a koleszterin DP-ra gyakorolt hatását. A két mérési technikát összehasonlítva lineáris regressziós analízis során szignifikáns pozitív korrelációt találtunk ($R^2=0,9964$, $p<0,0001$), alátámasztva citometriás módszerünk alkalmazhatóságát.

Munkánk során optimalizáltunk egy nagy áteresztőképességű módszert, amely alkalmas nagyszámú élő sejt DP-jának meghatározására és kimutattuk, hogy az ω -3 fiziológiás alternatíva a DP csökkentésére.

ÚNKP-21-3-I-DE-316, ÚNKP-21-3-I-DE-233, ÚNKP-21-4-II-DE-138, ÚNKP-21-4-II-DE-137, OTKA_K132906, OTKA_ANN133421, 2019-2.1.11-TÉT-2019-00059

Rövidítések: DP: dipólpotenciál, HC: hiperkoleszterinémia, SLOS: Smith-Leimli-Opitz szindróma, 6KC: 6-ketocholestanol, 7DHC: 7-dehidrokoleszterin, SA: sztearinsav, ALA: alfa-linolénsav, GLA: gamma-linolénsav