مقاله تحقیقی

مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره هجدهم، شماره ۲، بهمن ۱۳۹۴، صفحه ۳۱-۲۶

خصوصیات الکتروفیزیولوژیکی تک کانال کاتیونی حاصل از الحاق آمفوتریسین بی در غشا دولایه لیپیدی

طاهره شهمرادی (MSc)[۱]، منوچهر اشرف پور (PhD)[۲]، حمید سپهری (PhD)*[۳]

۱-گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، واحد بین الملل دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲-مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی بابل
۳-مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی گلستان

دریافت: ۹۴/۱/۲۶، اصلاح:۹۴/۵/۷، پذیرش:۹۴/۱۰/۱۶

خلاصه

سابقه و هدف: آمفوتریسین بی آنتی بیوتیک اصلی نوع پلی ین است که بطور وسیع در درمان عفونت های قارچی سیستمیک استفاده می گردد. تشکیل کانال یونی و افزایش نفوذپذیری غشاء سلول میزبان یکی از مهمترین مکانیسم های تاثیر این دارو است. این مطالعه به منظور بررسی برخی خصوصیات الکتروفیزیولوژیکی تک کانال کاتیونی حاصل از الحاق آمفوتریسین بی در غشا دو لایه لیپیدی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی پایه فسفاتیدیل کولین از زرده تخم مرغ تازه استخراج گردید. پس از تشکیل غشا دولایه لیپیدی و الحاق آمفوتریسین بی در غشاء، ثبت از فعالیت کانال در ولتاژهای ۴۰+ تا ۴۰- میلی ولت بعمل آمد. آنالیز جهت تعیین خواص الکتروفیزیولوژیک کانال با نرم افزار PClamp10 انجام گرفت.

یافته‌ها: پتانسیل معکوس کانال آمفوتریسین بی حدود ۳۶- میلی ولت بود. کانال در ولتاژهای مثبت تر فعال تر بود. به این صورت که در ولتاژ ۴۰- میلی ولت دامنه جریان ۲ ولی در ۴۰+ میلی ولت ۳۰ پیکوآمپر بود. بعلاوه احتمال باز بودن کانال در ولتاژ ۳۰- میلی ولت پایین (کمتر از ۰/۱۵) ولی در ولتاژ ۴۰+ به ۰/۷۵ افزایش یافت. کنداکتانس کانال مورد مطالعه نیز ۱۵۷±۴/۹ پیکوسیمنس بود.

نتیجه‌گیری: آمفوتریسین بی در غشای دولایه لیپیدی حاوی فسفاتیدیل کولین و فاقد کلسترول هم کانال کاتیونی تشکیل می دهد که از ویژگی و رفتار الکتروفیزیولوژیک وابسته به ولتاژ برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: الکتروفیزیولوژی، فسفاتیدیل کولین، آمفوتریسین بی، کانال کاتیونی.

مقدمه

آمفوتریسین بی آنتی بیوتیک اصلی خانواده پلی ین است که پس از شش دهه هنوز هم بعنوان استاندارد طلایی درمان عفونتهای سیستمیک قارچی مورد استفاده قرار گرفته و بطور وسیع برای درمان عفونت های قارچی سیستمیک بعد از پیوند، ایدز، بیماری های ویروسی، انگلی، پریونی و نیز شیمی درمانی بکار برده می شود (۲و۱). هر مولکول آمفوتریسین بی دارای ساختار میله‌ای و وزن مولکولی ۲۰۰ کیلو دالتون بوده و یک حلقه لاکتون تقریبا مسطح با هفت جفت پیوند دوگانه و زنجیره ای از گروه های آب دوست و گروه های کربوکسیل و آمین است که معمولا با بخش قندی مولکولهای مجاور خود ترکیب می شوند (۳و۱). مکانیسم عمل و نیز عوامل اثر گذار بر عملکرد آمفو تریسین بی دقیقا مشخص نیست. مهمترین مکانیسم سلولی پیشنهاد شده برای آن، تغییر نفوذپذیری غشاء سلول میزبان نسبت به مواد مختلف می‌باشد (۵و۴و۱). تعدادی از مونومرهای آمفوتریسین بی در غشا به دور هم تجمع یافته و کانال یونی را تشکیل می دهند. در غلظت های پایین تر آن کانال های غیر آبی با نفوذپذیری انتخابی نسبت به کاتیونها تشکیل می دهند که علاوه بر افزایش انتقال سدیم موجب افزایش pH مایع داخل سلولی می شود، بعلاوه ممکن است باعث فسفوریلاسیون تیروزین کینازها گردد (۵). ولی در دوزهای بالاتر کانالهایی تشکیل می دهند که متشکل از دو نیمه هستند و در هر نیمه ۸ مولکول آنتی بیوتیک و ۸ مولکول استرول در یک لایه غشا قرار می‌گیرد. واکنش الکترو استاتیک گروه آمینی از یک مولکول و گروه کربوکسیل مولکول مجاور با ایجاد پیوند هیدرونی موجب اتصال مولکولها به یکدیگر می شود (۱۰-۶). آمفوتریسین بی می تواند بدون حضور استرول هم تشکیل کانال یونی در غشای مصنوعی دهد ولی برای این منظور غلظت بالایی از آن مورد نیاز است (۱۱و۹). استرول بطور مستقیم نقشی در تشکیل کانال یونی ندارد بلکه با تاثیر بر ساختار غشا، تشکیل کانال یونی را تسهیل می نماید (۱۵-۱۲). یافته ها نشان می‌دهند که تلفیق آمفوتریسین بی با سایر داروها سبب بهتر شدن اثر و کاهش عوارض داروهای شیمی درمانی می شود (۱۹-۱۶). رفتار کانال یونی تشکیل شده توسط آمفوتریسین بی توسط عوامل گوناگونی تحت تاثیر قرار می گیرد. با توجه به این که، آمفوتریسین بی از طریق فعال سازی فاکتورهای پیش برنده آپاپتوز قادر به القای آپاپتوز است و امروزه در شیمی درمانی به عنوان

▣ این مقاله حاصل پایان نامه طاهره شهمرادی دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی گرگان می باشد.

*مسئول مقاله: حمید سپهری
آدرس: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی. تلفن: ۳۲۴۲۱۶۵۳-۰۱۷
E-mail: hamsep49@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.4.6]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.26]

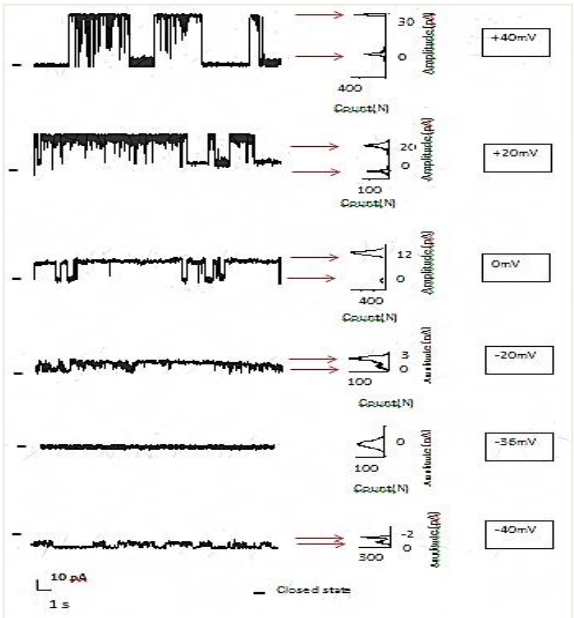
داروی مکمل به کار می رود (۱۸ و ۱۹) و همچنین این نکته که تغییرات ولتاژ می تواند زمان و چگونگی باز و بسته شدن کانالهای یونی و همچنین کنداکتانس و دامنه جریان عبوری از کانال ها را تغییر دهد لذا مطالعه حاضر با هدف بررسی برخی از خصوصیات الکتروفیزیولوژیکی تک کانال کاتیونی حاصل از الحاق آمفوتریسین بی در غشا دو لایه لیپیدی انجام شده است.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده برای استخراج فسفاتیدیل کولین شامل: کلروفرم، متانل، اتانل، استن، پترولیوم اتر، آلومینیم، استن و سیلیکاژل از شرکت مرک و مواد مورد استفاده برای ثبت تک کانال شامل: KCl، KOH، HEPES و Tris HCl از شرکت سیگما خریداری گردید. برای تشکیل غشاء لیپیدی دولایه از فسفاتیدیل کولین استفاده شد. استخرج فسفاتیدیل کولین از زرده تخم مرغ تازه و با روش Singletonو همکاران (۲۰) صورت گرفت، که با استفاده از حلالهای آلی لیپید زرده از پروتئین ها و پیگمان ها جدا شد. سپس فسفاتیدیل کولین با استفاده از ستون کروماتوگرافی از سایر فسفاتید ها جدا گردید. فاز ثابت ستون کروماتوگرافی آلومینیوم اکساید و فاز متحرک آن محلول متانل- کلروفرم با نسبت ۱:۹ بود. میزان خلوص فسفاتیدیل کولین بدست آمده با استفاده از TLC سنجیده شد. فسفاتیدیل کولین استخراج شده در میکرو تیوب‌ها جمع آوری و دور از نور و تحت گاز ازت تا زمان استفاده در دمای۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. برای تشکیل غشاء دولایه لیپیدی از روش Muller و همکاران استفاده شد (۲۱). برای این منظور با حل کردن فسفاتیدیل کولین در ان- دکان، غلظت ۲۵ میلی گرم/میلی لیتر آن بدست آمده و غشای دو لایه لیپیدی با استفاده از سوزن دندانپزشکی به قطر۱۵۰ میکرومتر بر روی منفذی به قطر۲۵۰ میکرومتر که بر روی دیواره ای از جنس تفلون که بین دو محفظه سیس و ترانس قرار داشت تشکیل می گردید. محفظه های سیس و ترانس سیستم BLM بترتیب حاوی غلظت های ۲۰۰ و ۵۰ میلی مولار کلرید پتاسیم بود. جهت الحاق کانال در غشاء دولایه لیپیدی محلول آمفوتریسین بی با غلظت ۵۰ میلی گرم در دسی لیتر توسط یک سوزن دندانپزشکی از طرف محفظه سیس با غشاء تماس داده می شد تا هنگامی که بطور تصادفی کانال در غشاء الحاق شده و جریان یونی برقرار گردد. ثبت الکتروفیزیولوژیکی فعالیت کانال کاتیونی حاصل از آمفوتریسین بی با روش ثبت تک کانال بعمل آمد. جریانات یونی حاصل پس از تقویت توسط دستگاه آمپلی فایر به کامپیوتر منتقل‌می شد. جهت ثبت فعالیت کانال از الکترودهای نقره و کلرید نقره (Ag/Agcl) استفاده می‌شد. الکترود متصل به محفظه ترانس بعنوان الکترود مرجع و الکترود متصل به محفظه سیس برای اعمال ولتاژ تنظیم شده بود. ثبت و اندازه گیری جریان عبوری از کانال توسط امپلی فایر بای لایر کلمپ (مدل BC-535 شرکت وارنر) انجام گرفت. تمام ثبت‌ها پس از یک فیلتر پایین گذر ۱ KHz با سرعت نمونه برداری ۱۰ KHz نمونه برداری و در کامپیوتر ذخیره گردید. برای آنالیز ثبت‌ها از نرم افزار۱۰ Pclamp شرکت Axon استفاده گردید. به این صورت که پس از تعیین خط پایه برای شکل بسته و باز کانال، دامنه جریان عبوری از کانال بر اساس پیکوآمپر و تعیین احتمال باز بودن کانال (po) از ثبت های با زمان کافی و با مدت یک دقیقه برای هر ولتاژ استفاده شد. سپس برای هر ولتاژ آمپلی تود هسیتوگرام جریان یونی کانال با نرم افزار مربوطه رسم گردید. برای تعیین کنداکتانس فعالیت کانال کاتیونی آمفوتریسین بی پس از رسم منحنی رابطه جریان- ولتاژ با نرم افزار Excel و با استفاده از فرمول مربوطه شیب منحنی مزبور به عنوان شاخصی از مقدار کنداکتانس کانال محاسبه گردید.

یافته ها

پس از تشکیل غشا دولایه لیپیدی و الحاق آمفوتریسین بی در غشا، ثبت از فعالیت کانال یونی در ولتاژهای مختلف از ۴۰+ تا ۴۰- میلی ولت بعمل آمد. نمونه هایی از ثبت بدست آمده از فعالیت کانال در ولتاژهای ۴۰+، ۲۰+، ۰ ، ۲۰- و ۴۰- میلی ولت به همراه هیستوگرام آنها در شکل ۱ نشان داده شد. پتانسیل معکوس فعالیت کانال حدود ۳۶- میلی ولت محاسبه گردید. در پتانسیل معکوس که گرادیان الکتروشیمیایی یون پتاسیم همدیگر را خنثی می کنند هیچگونه جریانی مشاهده نمی شود (شکل۱). در پتانسیل های مثبت تر از پتانسیل معکوس جریان رو به خارج (بطرف محفظه سیس) و مثبت ولی در پتانسیل های منفی تر از پتانسیل معکوس جریان رو به داخل (بطرف محفظه ترانس) و منفی برقرار می شد. با توجه به اینکه پتانسیل معکوس فعالیت کانال نزدیک به پتانسیل تعادلی یون پتاسیم (EK^{+}= -۳۶mV) قرار دارد لذا کانال کاتیونی بوده و نفوذپذیری زیادی نسبت به یون پتاسیم نشان می دهد.

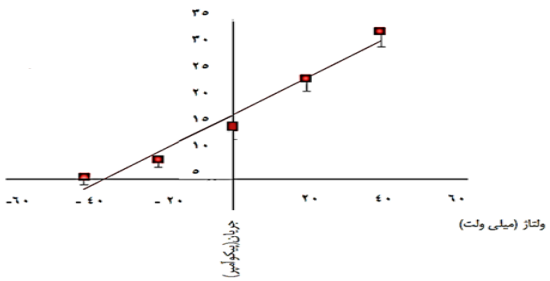


شکل ۱. ثبت از فعالیت کانال آمفوتریسین بی همراه با امپلی تود هیستوگرام جریان عبوری از کانال در غشا دو لایه لیپیدی در ولتاژهای مختلف. محیط حاوی محلول کلرید پتاسیم ۲۰۰ و ۵۰۰ میلی مولار بترتیب برای سیس و ترانس بود. n=۷ برای هر ولتاژ. ——— وضعیت بسته کانال را نشان می دهد.

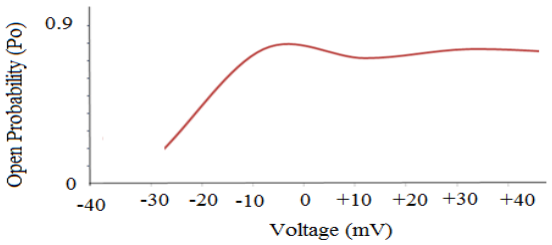
با استفاده از معادله گولدمن-هوچکین- کاتز (۲۲) نسبت نفوذپذیری پتاسیم به کلر بالای ۲۵ محاسبه گردید که این بدان معنی است که در این مطالعه کانال یونی حاصل از آمفوتریسین بی در غشای دو لایه لیپیدی متشکل از فسفاتیدیل کولین بیش از ۲۵ برابر نسبت به یون پتاسیم نفوذپذیری انتخابی نشان می دهد و

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.4.6]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.26]

نفوذپذیری آن به یون کلر ناچیز است. دامنه این جریان ها در ولتاژهای مثبت‌تر از mV ۳۰- بتدریج افزایش می یابد طوریکه دامنه جریان عبوری از کانال در ولتاژ mV ۲۰- در سطح ۱±۳- پیکو آمپر ولی در ولتاژ mV۴۰+ به ۳/۵±۳۰ پیکوآمپر رسید. کانال کاتیونی حاصل از الحاق آمفوتریسین بی در غشای دو لایه لیپیدی وابستگی به ولتاژ نشان می دهد و فعالیت کانال دارای رفتار اهمی بوده و هیچگونه ویژگی یکسوسازی نشان نمی دهد، از نظر الکتروفیزیولوژی رفتار و طرز عمل وابسته به ولتاژ کانال به گونه ای بود که با افزایش پتانسیل اعمال شده بر غشا و در ولتاژ های مثبت تر کانال فعالتر شده و دامنه جریانات یونی عبوری از آن افزایش می یافت (نمودار ۱). شیب منحنی ارتباط جریان- ولتاژ فعالیت کانال نشان دهنده کنداکتانس کانال است که با استفاده از معادله شیب خط مقدار کنداکتانس کانال بدست آمده ۴/۹۰ ±۴۷۰ پیکوسیمنس محاسبه گردید. با افزایش پتانسیل اعمال شده بر غشا از سطح ۳۰- میلی ولت میانگین احتمال بودن کانال بتدریج افزایش یافت (نمودار ۲). میانگین مقدار Po کانال در ولتاژ ۳۰- میلی ولت ناچیز ولی با افزایش پتانسیل به ۰ میلی ولت احتمال باز بودن کانال به ۰/۸ افزایش یافت. با تغییر ولتاژ از ۰ تا ۴۰+ میلی ولت میانگین مقدار Po فعالیت کانال تغییر نشان نداده و در سطح ۰/۷۵ حفظ گردید.



نمودار۱. رابطه جریان- ولتاژ کانال آمفوتریسین بی در غشای دو لایه لیپیدی متشکل از فسفاتیدیل کولین در شرایط ۵۰ میلی مول کلرید پتاسیم فضای سیس و ۲۰۰ میلی مول کلرید پتاسیم فضای سیس. نقاط بصورتMean±SE نمایش داده شده است (n=۷)



نمودار۲. رابطه احتمال بازبودن و ولتاژ کانال آمفوتریسین بی در ولتاژهای مختلف. مقادیر Mean±SE مربوط به هر ولتاژ بوده و n=۷ برای هر ولتاژ

بحث و نتیجه گیری

یافته های مطالعه حاضر نشان می دهند که به دنبال الحاق آمفوتریسین بی در غشای دو لایه لیپیدی متشکل از فسفاتیدیل کولین نوعی کانال کاتیونی با نفوذپذیری انتخابی نسبت به یون پتاسیم بوجود آمد که کانال مزبور از نظر خواص الکتروفیزیولوژیکی رفتار وابستگی به ولتاژ نشان میدهد. دامنه جریان یونی فعالیت کانال مزبور و نیز احتمال باز بودن آن در ولتاژهای مثبت بیشتر بوده و کانال از منحنی رابطه جریان-ولتاژ خطی برخوردار است. مشابه نتایج مطالعه ما در مطالعات دیگری که در این زمینه انجام گرفت نشان داده شد که که آمفوتریسین بی قادر است درغشاهای فاقد استرول نیز تشکیل کانال دهد (۲۳و۱۱). علاوه بر این در مطالعه Brutyan و همکاران نیز اضافه نمودن آمفوتریسین بی به یک طرف غشا فسفاتیدیل کولین منجر به تشکیل کانال انتخابی کاتیونی تک ظرفیتی گردید، در حالی که با افزودن آنتی بیوتیک به هر دو طرف غشا، کانالهای تشکیل شده به نوع آنیونی تغییر یافت (۱۶). در دیگر مطالعه انجام شده کانال حاصل از آمفوتریسین بی در غشا دولایه لیپیدی از نوع کاتیونی بود(۷). Huang و همکاران نشان دادند که آمفوتریسین بی در فرم مونومر و تجمع یافته می تواند در غشای حاوی ارگسترول کانالهای یونی تشکیل دهد ولی تنها زمانی که آمفوتریسین نسبتا زیاد و به فرم تجمع یافته در محل وجود داشت، می توانست در غشای فاقد استرول تشکیل کانال یونی دهد (۱۱). نتایج آنها نشان داد که فرم آمفوتریسین بی نقش مهمی در شکل دادن کانال های یونی در غشاء فاقد استرول بازی می کند. همچنین نتایج تحقیق Venegas و همکاران نشان داد که برای تشکیل کانال در این غشا مقدار قابل توجهی از آمفوتریسین بی مورد نیاز است(۲۳). همانطور که مشاهده شد میزان کنداکتانس کانال کاتیونی حاصل از آمفوتریسین بی در غشای دولایه لیپیدی متشکل از فسفاتیدیل کولین ۴/۹۰±۴۷۰ پیکوسیمنس بود. ولی در مطالعه Cohenو همکاران کنداکتانس کانال درغشای حاوی فسفاتیدیل کولین فاقد کلسترول ۳/۹±۳۵/۴ پیکو سیمنس بود (۲۴). که این یافته با نتایج بدست آمده از مطالعه ما در تناقض قرار دارد. ممکن است بخشی از این تفاوت را به اختلاف در pH محیط مطالعه و ولتاژهای ثبت نسبت داد چرا که آزمایشات آنها در pH=۸ و ولتاژ ۲۰۰ میلی ولت انجام شد. در مطالعه Brutyan و همکاران نیز میزان هدایت کانال آمفوتریسین بی در pH=۷ برابر ۶/۵ پیکوسیمنس بود و افزودن آمفوتریسین به یک طرف غشاء حاوی کلسترول- فسفولیپید، کانالی با حداکثر هدایت ۱۵ پیکوسیمنس و در غشاء حاوی ارگوسترول- فسفولیپید ۶ تا ۷/۵ پیکوسیمنس ایجاد نمود، بر اساس نتایج مطالعه مزبور کنداکتانس کم تر از ۱۱ پیکوسیمنس کانال های آمفوتریسین درغشا دی پالمیتیل فسفاتیدیل کولین فاقد کلسترول به طول عمر کوتاه آنها نسبت داده شده است (۱۶). بطور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که آمفوتریسین بی می تواند درغشا فسفاتیدیل کولین فاقد کلسترول هم نوعی کانال کاتیونی با نفوذپذیری انتخابی به پتاسیم تشکیل دهد که فعالیت الکتروفیزیولوژیک آن وابستگی شدیدی به ولتاژ نشان می دهد. به این صورت که میزان کنداکتانس، دامنه جریان و نیز Po فعالیت کانال بطور قابل ملاحظه ای در پتانسیل های مثبت تر اعمال شده و به سمت سیس کانال افزایش می یافت.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی گلستان جهت حمایت مالی از این تحقیق، همچنین از معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی و همکاران گروه فیزیولوژی جهت همکاری در این تحقیق، تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.4.6]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.26]

Electrophysiological Characteristics of Cationic Single-Channel formed by Incorporation of Amphotericin B in Bilayer Lipid Membrane

T. Shahmoradi (MSc)[1], M. Ashrafpour (PhD)[2], H. Sepehri (PhD)*[3]

1.Department of Physiology, Faculty of Medicine, International Branch of Shahid Behshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R.Iran
2.Cellular and Molecular Research Center. Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran
3.Neuroscience Research Center, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 18(2); Feb 2016; PP:26-31
Received: Apr 15th 2015, Revised: Jul 29th 2015, Accepted: Jan 6th 2016.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Amphotericin B (AmB) is the main antibiotic of polyene type, which is widely used in the treatment of systemic fungal infections. One of the key mechanisms of this drug is the formation of ion channels and increasing permeability of the host cell membranes. This study was conducted to evaluate some of the electrophysiological characteristics of cationic single-channel formed by the incorporation of AmB in bilayer lipid membrane (BLM).

METHODS: In this experimental study, phosphatidyl choline was extracted from fresh egg yolk. After the formation of BLM and the incorporation of AmB in the membrane, the channel activity was recorded through +40 to -40 millivolt (mV) voltages. Data analysis was conducted using PClamp10 software to determine the electrophysiological characteristics of the channel.

FINDINGS: Reverse potential of Amphotericin B ion Channel was-36 mV. The Channel activity was more in such positive voltages. This means that in voltage -40 mV the current amplitude was 2 Pico Ampère but in voltage +40 mV reach to 30 Pico Ampère. In addition, the channel open probability at voltage -30 mV voltage was low (less than 0.15) but increased to 0.75 in voltage +40 mV. The channel conductance was also 157±4.9 Picoseimence.

CONCLUSION: AmB forms cationic channels in BLMs with phosphatidylcholine and without cholesterol. This channel has voltage-dependent electrophysiological characteristics and behaviors.

KEY WORDS: *Electrophysiological, Phosphatidylcholine, Amphotericin B, Cationic channel*.

.

Please cite this article as follows:

Shahmoradi T, Ashrafpour T, Sepehri H. Electrophysiological Characteristics of Cationic Single-Channel formed by Incorporation of Amphotericin B in Bilayer Lipid Membrane. J Babol Univ Med Sci. 2016;18(2):26-31.

***Corresponding Author: H. Sepehri (PhD)**
Address: Department of Physiology, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, I.R.Iran
Tel: +98 17 32421653
E-mail: hamsep49@yahoo.com

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.4.6]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.26]

References

1.Kamiński DM. Recent progress in the study of the interactions of amphotericin B with cholesterol and ergosterol in lipid environments. Eur Biophys J. 2014;43(10-11):453-67.

2.Bolard J. How do the polyene macrolide antibiotics affect the cellular membrane properties? Biochim Biophys Acta. 1986;864(3):257-304.

3.Hamill RJ. Amphotericin B formulations: a comparative review of efficacy and toxicity. Drugs. 2013;73(9):919-34.

4.Andreoli TE. On the anatomy of amphotericin B-cholesterol pores in lipid bilayer membranes. Kidney Int. 1973;4(5):337-45.

5. Chéron M, Cybulska B, Mazerski J, Grzybowska J, CzerwiŃski A, Borowski E. Quantitative structure-activity relationships in amphotericin B derivatives. Biochem Pharmacol. 1988;37(5):827-36.

6.Hartsel S, Bolard J. Amphotericin B: new life for an old drug. Trends Pharmacol Sci. 1996;17(12):445-9.

7.Holz R, Finkelstein A. The water and nonelectrolyte permeability induced in thin lipid membranes by the polyene antibiotics nystatin and amphotericin B. J Gen Physiol. 1970;56(1):125-45.

8.Ostroumova OS, Efimova SS, Schagina LV. Probing amphotericin B single channel activity by membrane dipole modifiers. PLoS One. 2012;7(1):e30261.

9.Borisova M, Ermishkin L, Sil'bershteĭn A, Kasumov K, Potseluev V. [Relationship between ion channel properties and the structure of the lactone ring of polyene antibiotic molecules]. Biofizika. 1978;23(5):910-1.

10.Palacios DS, Dailey I, Siebert DM, Wilcock BC, Burke MD. Synthesis-enabled functional group deletions reveal key underpinnings of amphotericin B ion channel and antifungal activities. Proc Natl Acad Sci USA. 2011; 108(17): 6733-8.

11.Huang W, Zhang Z, Han X, Tang J, Wang J, Dong S, et al. Ion channel behavior of amphotericin B in sterol-free and cholesterol-or ergosterol-containing supported phosphatidylcholine bilayer model membranes investigated by electrochemistry and spectroscopy. Biophys J. 2002;83(6):3245-55.

12.Baginski M, Resat H, Borowski E. Comparative molecular dynamics simulations of amphotericin B-cholesterol/ergosterol membrane channels. Biochim Biophys Acta. 2002;1567:63-78.

13.Czub J, Baginski M. Modulation of amphotericin B membrane interaction by cholesterol and ergosterol a molecular dynamics study. J Phys Chem B. 2006;110(33):16743-53.

14.Wilcock BC, Endo MM, Uno BE, Burke MD. C2′-OH of amphotericin B plays an important role in binding the primary sterol of human cells but not yeast cells. J Am Chem Soc. 2013;135(23):8488-91.

15.Feĭgin A, Gnanik T, Pasechnik V, Flerov M, Bogoslovskiĭ N. [Role of sterols in the interaction of polyene antibiotics with lipid membranes]. Antibiotiki. 1981;26(7):522.

16.Brutyan RA, McPhie P. On the one-sided action of amphotericin B on lipid bilayer membranes. J Gen Physiol. 1996;107(1):69-78.

17.Marklund L, Henriksson R, Grankvist K. Cisplatin-induced apoptosis of mesothelioma cells is affected by potassium ion flux modulator amphotericin B and bumetanide. Int J Cancer. 2001;93(4):577-83.

18. Valeriote F, Medoff G, Tolen S, Dieckman J. Amphotericin B potentiation of the cytotoxicity of anticancer agents against both normal hematopoietic and leukemia cells in mice. J Natl Cancer Inst. 1984;73(2):475-82.

19.Cao SS, Zhen YS. Potentiation of antimetabolite antitumor activity in vivo by dipyridamole and amphotericin B. Cancer Chemother Pharmacol. 1989;24(3):181-6.

20. Singleton W, Gray M, Brown M, White J. Chromatographically homogeneous lecithin from egg phospholipids. J Am Oil Chem Soc. 1965;42(1):53-6.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.4.6]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.26]

21. Mueller P, Rudin DO, Tien HT, Wescott WC. Reconstitution of cell membrane structure in vitro and its transformation into an excitable system. Nature. 1962;194(4832):979-80.
22. Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. J Physiol. 1952; 117(4):500-44.
23. Venegas B, González-Damián J, Celis H, Ortega-Blake I. Amphotericin B channels in the bacterial membrane: role of sterol and temperature. Biophys J. 2003;85(4):2323-32.
24. Cohen BE, Amphotericin B membrane action: role for two types of ion channels in eliciting cell survival and lethal effects. J Membr Biol. 2010;238(1-3):1-20.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1394.18.2.4.6]
[DOI: 10.22088/jbums.18.2.26]