

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МЕХАНИЗМОВ РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИИ МИТОХОНДРИЙ НОРМАЛЬНЫХ И ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

Крылова Н.Г.¹, Чещевик В.Т.², Головач Н.Г.², Кулагова Т.А.¹,
Заводник И.Б.²

¹Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Я. Купалы, Гродно, Беларусь

Митохондрии являются основными продуцентами внутриклеточных активных форм кислорода (АФК). Показано, что в опухолевых клетках количество образуемых митохондриями АФК значительно возрастает, что приводит к смещению редокс-баланса в опухолевых клетках. В настоящее время регуляция функционирования митохондрий, в том числе образования ими АФК, рассматривается как перспективный метод терапии опухолей. Однако механизмы, ответственные за изменение редокс-статуса митохондрий в опухолевых клетках, изучены не достаточно. Целью работы было проведение сравнительного анализа механизмов генерации супероксидных анион-радикалов митохондриями нормальных клеток печени крыс и митохондриями клеток глиомы.

Генерацию $O_2^{\cdot-}$ изолированными митохондриями печени крыс и митохондриями клеток глиомы крысы линии С6 регистрировали флуоресцентным методом с использованием зонда mitoSOX (*Invitrogen*, Германия). В условиях окисления митохондриями печени крыс субстратов комплекса I (5 ммоль/л глутамата и 2,5 ммоль/л малата (глу/мал)) продукция $O_2^{\cdot-}$ в 2,6 раза выше, чем при окислении сукцината (рисунок 1А). При ингибировании комплекса I ротеноном регистрируется снижение выхода $O_2^{\cdot-}$ на 66 % в митохондриях, окисляющих глу/мал. При этом воздействие ингибиторов комплексов II (теноилтрифторацетон, ТТФА) и III (антимидин А) не оказывало влияния на генерацию АФК митохондриями в нативном состоянии и при ингибировании комплекса I. На основании этих данных можно предположить, что основными сайтами генерации митохондриальных $O_2^{\cdot-}$ в условиях окисления глу/мал являются флавин- и убихинон-связывающий сайты комплекса I электрон-транспортной цепи (ЭТЦ).

Митохондриальная продукция $O_2^{\cdot-}$ снижается на 29 % при ингибировании НАДН-хинон оксидоредуктазы (NQO1) дикумаролом. NQO1 поддерживает восстановленное состояние пула убихинона. При ингибировании NQO1 концентрация окисленного убихинона возрастает, что

увеличивает эффективность переноса электронов между комплексами I и III, и снижает утечку электронов на кислород.

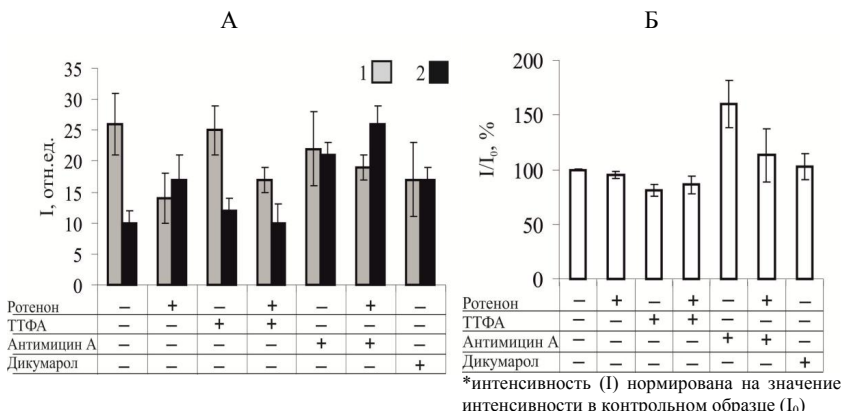


Рисунок 1 – Интенсивность флуоресценции зонда mitoSOX (I) через 40 мин инкубирования в суспензии митохондрий печени крыс (А) в условиях окисления глумал (1) и сукцината (2) и в клетках глиомы (Б) при ингибировании различных участков ЭТЦ

Для энергезированных сукцинатом митохондрий наблюдается усиление генерации $O_2^{\cdot-}$ при ингибировании Q_1 -сайта комплекса III антимицином А (на 130 %). Так как воздействие ротенона на фоне антимицина А не приводит к снижению продукции $O_2^{\cdot-}$ можно сделать вывод, что Q_0 -сайт комплекса III является основным местом образования $O_2^{\cdot-}$ при окислении сукцината. При добавлении ТТФА и дикумарола регистрируется повышение генерации АФК на 30 % и 85 %, соответственно, что обусловлено усилением обратного потока электронов и образованием $O_2^{\cdot-}$ в комплексе I. В клетках глиомы крысы линии С6 частичное ингибирование комплекса II ТТФА, наоборот, приводит к снижению продукции митохондриальных $O_2^{\cdot-}$. В то же время при действии антимицина А на клетки глиомы наблюдается усиление образования $O_2^{\cdot-}$ на 50 %, обусловленное обратным потоком электронов между комплексами III и I.

Сравнивая механизмы генерации $O_2^{\cdot-}$ митохондриями опухолевых клеток и митохондриями печени крыс, можно сделать вывод, что в митохондриях клеток глиомы эффективность обратного потока электронов в ЭТЦ значительно выше, чем в митохондриях клеток печени. Это может быть обусловлено более окисленным редокс-состоянием пула убихинона в митохондриях опухолевых клеток по сравнению с нормальными.