Министерство образования Республики Беларусь
Белорусский государственный университет
Национальная академия наук Беларуси
Институт биофизики и клеточной инженерии

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ, МЕМБРАННЫЕ И КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ БИОСИСТЕМ

МЕЖДУНАРОДНАЯ НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ

ДЕСЯТЫЙ СЪЕЗД БЕЛОРУССКОГО ОБЩЕСТВЕННОГО ОБЪЕДИНЕНИЯ ФОТОБИОЛОГОВ И БИОФИЗИКОВ

19–21 июня 2012 г., Минск, Беларусь

СБОРНИК СТАТЕЙ
В двух частях

Часть 1

Минск
Издательский центр БГУ
2012

РЕДОКС-РЕГУЛЯЦИЯ ХИНОНАМИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ МИТОХОНДРИЙ

[1]Крылова Н.Г., [1]Кулагова Т.А., [2]Чещевик В.Т., [2]Дремза И.К., [2]Заводник И.Б.

[1]Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, [2]НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси», Гродно, Беларусь

Хиноны – редокс-активные соединения, способные регулировать функционирование клеток, изменяя их редокс-статус за счет индуцирования продукции активных форм кислорода (АФК) или, наоборот, проявляя антиоксидантные свойства (в восстановленной форме). Другим механизмом регуляции свойств клеток хинонами является участие хиноновых соединений в реакциях арилирования SH- и амино-групп ряда функциональнозначимых белков. Известной внутриклеточной мишенью действия хинонов является электронтранспортная цепь (ЭТЦ) митохондрий. В настоящее время известны отдельные пути одно- и двухэлектронного восстановления хинонов до семихинонов и дигидрохинонов, соответственно. В зависимости от структуры и свойств конкретного представителя хинонового ряда воздействие на функционирование ЭТЦ различно. Показано, что 1,4-бензохинон, 1,4-нафтохинон и их производные в разной степени индуцируют падение митохондриального потенциала (митохондриальную дисфункцию) в клетках и в нагруженных кальцием изолированных митохондриях. Этот эффект связывают с открытием пор высокой проводимости при усилении продукции АФК редокс-активными хинонами или прямым арилированием SH-групп белков, участвующих в формировании пор [1]. С другой стороны, ряд гидрофильных хинонов (менадион, дурохинон, коэнзим Q_0) способны восстанавливать дыхательную и фосфорилирующую функцию митохондрий в условиях подавления дыхания ротеноном, шунтируя комплексы ЭТЦ. Восстанавливаясь митохондриальной ДТ-диафоразой, эти хиноны передают электроны на коэнзим Q_{10} или могут выступать в качестве субстрата сукцинатдегидрогеназы. Несмотря на интенсивное изучение воздействия хинонов на функционирование митохондрий, эта проблема до сих пор остается открытой из-за сложности и разнообразия процессов, индуцируемых хинонами в биологических системах. Группа хиноновых соединений представляется перспективной при разработке терапевтических средств и подходов в лечении митохондриальных заболеваний. Це-

лью данной работы было выяснить влияние ряда хинонов: юглона, 1,4-бензохинона (БХ), 2,5-дитретбутил-1,4-бензохинона (ДТББХ), менадиона, лавсона, коэнзимов Q_0 и Q_{10}, 2,3,5-триметил-1,4-бензохинона (ТМБХ) на митохондриальный потенциал и продукцию АФК в митохондриях печени крыс в условиях ингибирования комплекса I ЭТЦ ротеноном.

Установлено, что добавление к суспензии митохондрий $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л юглона (5-гидрокси-1,4-нафтохинон) проводит к медленному частичному снижению митохондриального потенциала от –200 мВ (для контрольного образца) до –150 мВ в течение 10-15 мин при окислении в качестве субстрата дыхания глутамата/малата, но не сукцината в ЭТЦ. Выявлено, что воздействие юглона усиливает действие ротенона (ингибитора комплекса I дыхательной цепи), повышая скорость потери митохондриального потенциала. При добавлении ротенона к суспензии митохондрий в условиях окисления сукцината мембранный потенциал не изменяется в контрольном образце, но значительно снижается в образце, содержащем юглон. Выявлено, что БХ не влияет на митохондриальный потенциал в отсутствие ротенона, но усиливает действие ротенона при окислении глутамата/малата в ЭТЦ митохондрий. ДТББХ в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л снижает мембранный потенциал митохондрий печени крыс на 12±2 мВ как при окислении глутамата/малата, так и при окислении сукцината в ЭТЦ митохондрий. Как и в случае юглона, при совместном действии ДТББХ и ротенона регистрируется падение потенциала на 44±9 мВ в условиях окисления сукцината. Влияния ДТББХ на ротенон-индуцированнное снижение потенциала при использовании глутамата/малата в качестве субстрата выявлено не было. Лавсон (2-гидрокси-1,4-нафтохинон), экзогенный коэнзим Q_{10} и ТМБХ в концентрации $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л не оказывают влияния на мембранный потенциал при окислении обоих типов субстрата. В то же время ТМБХ и менадион восстанавливают митохондриальный потенциал при ингибировании ротеноном комплекса I дыхательной цепи до 149±15 мВ и 200±2 мВ (полностью), соответственно. При дополнительном воздействии дикумарола (ингибитора фермента двухэлектронного восстановления хинонов) восстановленный хинонами митохондриальный потенциал снижается до нуля в случае ТМБХ и до 155±5 для менадиона.

Для выявления роли хинониндуцированных АФК в снижении трансмембранного потенциала оценивали внемитохондриальную генерацию H_2O_2 с использованием флуоресцентного зонда дихлородигидрофлуоресцеина. Выход АФК оценивали по скорости изменения интенсивности флуоресценции зонда в течение 40 мин. Установлено, что $1 \cdot 10^{-5}$ моль/л ДТББХ, $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л БХ и $1 \cdot 10^{-6}$ моль/л юглон индуцируют гене-

рацию АФК в митохондриях печени крыс при использовании глутамата/малата в качестве субстратов дыхания. Максимальное образование АФК наблюдается при действии юглона. Индуцированная ДТББХ и БХ генерация АФК в 4,7 раза ниже, чем при воздействии юглона. При воздействии ротенона регистрируется повышение продукции АФК митохондриями. Однако ротенон подавляет юглониндуцированную генерацию АФК и усиливает выход АФК при действии ДТББХ и БХ. К основным источникам АФК в митохондриях относят НАДН-дегидрогеназный сайт комплекса I дыхательной цепи и Q-цикл. Известно, что ингибирование ЭТЦ ротеноном будет приводить к снижению генерации АФК в комплексе III, но к повышению генерации АФК в комплексе I. На основании полученных данных можно предположить, что ДТББХ и БХ, вероятно, способны перехватывать электроны из комплекса I ЭТЦ, в то время как юглон потенциирует утечку электронов из комплекса III. ТМБХ, менадион и коэнзим Q_0 не индуцировали генерацию АФК митохондриями и проявляли антиоксидантное действие, уменьшая генерацию, вызванную воздействием ротенона.

Сравнение полученных данных позволяет предположить АФК-зависимый механизм развития митохондриальной дисфункции при действии БХ, юглона и ДТББХ. Напротив, ТМБХ, менадион и коэнзим Q_0 в восстановленной форме предотвращают нарушение функционирования ЭТЦ, обеспечивая перенос электронов вдоль цепи, либо взаимодействуют с АФК, выполняя антиоксидантную функцию. Таким образом, хиноны, различаясь химической структурой, окислительно-восстановительным потенциалом, липофильностью, способны эффективно вовлекаться в митохондриальные процессы, взаимодействуя с комплексами дыхательной цепи, регулируя перенос электронов, мембранный митохондриальный потенциал, генерацию АФК митохондриями.

Литература

1. Henry, T.R. Differential mechanisms of induction of the mitochondrial permeability transition by quinones of varying chemical reactivities / T.R. Henry and K.B. Wallace // Toxicol & Appl Pharmacol – 1995 – Vol. 135 – P.195-203.