

Митохондриальная мегапора (mPTP) и процесс клеточной гибели

Крицкая К.А.^{1*}, Стельмашук О.А.², Бережнов А.В.^{1,2}, Абрамов А.Ю.^{2,3}

¹ИБК РАН - ФИЦ ПНЦБИ РАН;

²Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел, Россия;

³Department of Clinical and Movement Neurosciences, UCL Queen Square Institute of Neurology, London, UK;

kritskayak96@yandex.ru

Различные патологические состояния, такие как нейродегенерация, сердечно-сосудистые заболевания, рак и старение связаны с нарушением функций митохондрий и, в частности, митохондриальной мегапоры (mPTP). Открытие mPTP приводит к резкому увеличению проницаемости митохондриальной мембраны, потере митохондриального потенциала и запуску запрограммированной клеточной гибели – апоптоза, либо некроза. В свою очередь открытие mPTP может быть вызвано чрезмерной продукцией АФК, перегрузкой кальцием, низкой доступностью субстрата, ингибированием дыхательных комплексов митохондрий и т.д. Предполагают, что в опухолевых клетках нарушен механизм запуска апоптоза, опосредуемый mPTP, в то время как при нейродегенерации токсичность белковых агрегатов, таких как α -синуклеина, опосредована открытием mPTP.

Известно, что открытие mPTP – это универсальный механизм индукции апоптоза для различных типов клеток млекопитающих, однако, до сих пор не было установлено количественное соотношение митохондрий с открытыми mPTP к общему пулу митохондрий клетки, необходимое для запуска клеточной гибели.

Чтобы проверить это соотношение мы выбрали четыре типа клеток млекопитающих: нейроны, астроциты, клетки рака молочной железы и фибробласты. Клетки загружали потенциал-чувствительным красителем TMRM (25нМ) и флуоресцентным субстратом каспазы3 NucView (2мкМ). Далее проводили поэтапное введение ферутина – электрогенного ионофорного индуктора открытия mPTP, опосредующего увеличение проницаемости митохондриальной мембраны и кальциевую перегрузку митохондрий. Открытие mPTP происходит, если добавка ферутина сопровождается быстрой потерей митохондриального потенциала и угасанием флуоресценции TMRM. Далее вычисляли процент митохондрий с открытыми mPTP во время индукции апоптоза (о котором свидетельствовало резкое увеличение флуоресценции NucView) к общему пулу митохондрий в начальный момент съёмки (начальная митохондриальная площадь, 100%).

Было обнаружено, что для индукции апоптоза в фибробластах необходим наименьший процент митохондрий с открытыми mPTP (25±1,4%). В нейронах же для индукции апоптоза требовалось 64 ±4% митохондрий с открытыми mPTP, в то время как в астроцитах это значение составляло 77±5%. В опухолевых клетках, несмотря на большую гетерогенность данных, для индукции апоптоза была необходимо открытие mPTP в более чем 90±8% митохондрий.

Поскольку эволюционная роль нейронов и астроцитов прочно связана с кальциевой сигнализацией, вероятно, такие различия в этом показателе могут объясняться более низкой чувствительностью нейрональных и астроцитарных митохондрий к кальциевой перегрузке по сравнению с митохондриями фибробластов. Для опухолевых же клеток, характерна высокая скорость митофагии и аутофагии, которая, возможно, до определённого момента сдерживает индукцию апоптоза, несмотря на активацию mPTP в большинстве митохондрий клетки.

Таким образом, в настоящей работе получены данные, описывающие порог чувствительности к индукции апоптоза через открытие mPTP и кальциевую перегрузку в разных типах клеток. Поскольку вещества, модулирующие работу mPTP рассматриваются в качестве потенциальной мишени для терапии различных заболеваний, необходимо детальное изучение чувствительности митохондрий различных типов клеток к их действию.

Работа выполнена в рамках государственного задания ИБК РАН № 075-01512-22-03 по теме: "Нейропротекторные препараты нового поколения" № 1022080100047-5-1.6.4
