

**ОЦЕНКА МОРФОЛОГИИ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ СЕТИ КАК МЕТОД  
ИЗУЧЕНИЯ ПРОЦЕССОВ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ**

КУЗНЕЦОВА Е.А.<sup>1</sup>, БЕЗСОНОВ Е.Е.<sup>1,2</sup>, ВИНОКУРОВ А.Ю.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, г. Орёл, Россия,  
1408199714@rambler.ru

<sup>2</sup>Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), г. Москва, Россия

Морфология митохондриальной сети, а также уровень митохондриальной массы клеток является результатом совместного влияния процессов митохондриальной динамики [1, 2]. Для изучения указанных процессов широко используется конфокальная флуоресцентная микроскопия [3] и различные алгоритмы обработки получаемых изображений. При этом могут быть реализованы два методологических подхода: морфологический и морфометрический [4]. Первый позволяет на основе методов машинного обучения классифицировать митохондрии на отдельные категории, характеризуя таким образом всю сеть в целом. При морфометрическом подходе реализуется измерение отдельных параметров митохондрий, таких как объем, длина и другие. Широкий набор доступных инструментов обработки митохондриальных сетей предоставляют программы ImageJ и Fiji, которые была использована нами при измерении митохондриальной массы и оценке морфологии митохондриальной сети при исследовании влияния физиологически активных веществ на моноцитоподобные клетки ТНР-1.

При обработке полученных на конфокальном микроскопе 3D изображений клеток, загруженных кальцийчувствительным зондом Fluo4 AM и митохондриально направленным TMRM, митохондриальную массу рассчитывали как долю общего содержания митохондрий от объема клетки с помощью макроса Measure Stack ImageJ. В целях оценки морфологии митохондриальной сети конфокальные изображения высокого разрешения (полученные в режиме Airyscan) подвергали деконволюции с помощью программного обеспечения ZEN Blue edition и последующей обработке в Fiji с использованием плагина Skeleton.

Полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии добавок сукцината (5мМ), рибофлавина (0,08 мг/мл), коэнзима Q10 (4,3 мг/мл) и его гидрофильной формы идебенона (1,4 мг/мл), а также витамина Е (1,5 мг/мл) на содержание митохондрий в клетках (уровень митохондриальной массы увеличивается соответственно в 1,4, 1,4, 2,0, 1,8, 1,4 раз). В случае пирувата такой эффект не зафиксирован. Внесенные добавки также влияют на морфологию митохондриальной сети. В сравнении с контролем наблюдается некоторое увеличение средняя длины ветвей митохондрий в присутствии всех соединений за исключением витамина Е и В<sub>2</sub>. При этом степень разветвления митохондрий имеет тенденцию к увеличению под влиянием митохондриальных субстратов – пирувата и сукцината.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 22-15-00317.

Список литературы

1. Felix Kraus, Krishnendu Roy, Thomas J. Pucadyil, Michael T. Ryan Function and regulation of the divisome for mitochondrial fission // Nature. – 2021. – Vol 590. – P. 57-66
2. Werner J.H. Koopman, Henk-Jan Visch, Jan A.M. Smeitink, Peter H.G.M. Willems Simultaneous quantitative measurement and automated analysis of mitochondrial morphology, mass, potential, and motility in living human skin fibroblasts // Cytometry. – 2006. – Vol. 69A. – P. 1-12.
3. Bertolini I., Keeney F., and Altieri D.C. Protocol for assessing real-time changes in mitochondrial morphology, fission and fusion events in live cells using confocal microscopy // STAR Protocols 2. – 2021. – 100767.
4. Harwig M., Viana M.P., Egnera J.M., Harwig J. J., Widlansky M.E., Rafelskief S.M., Blake R. Methods for imaging mammalian mitochondrial morphology: A prospective on MitoGraph // Analytical Biochemistry. – 2018. – Vol. 552. – P. 81-99.