

УДК 577.31

АССОЦИИРОВАННЫЕ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ МУТАЦИИ МТДНК ИЗМЕНЯЮТ МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ КЛЕТОК

Казаков М.С. (ОГУ им. И.С. Тургенева), Попов Д.Ю. (ОГУ им. И.С. Тургенева), Шитикова Е.Ю. (ОГУ им. И.С. Тургенева)

Научный руководитель – кандидат технических наук, доцент Винокуров А.Ю. (ОГУ им. И.С. Тургенева)

Введение. Имеется большое количество работ о влиянии единичных мутаций митохондриальной ДНК (мтДНК) на функциональность митохондрий, но из-за высокой подверженности мтДНК повреждениям и несовершенному процессу репарации велика вероятность возникновения множественных повреждений митохондриального генома со сложным характером влияния на метаболизм [1]. Показано, что нарушения метаболизма, которые могут быть связаны и с дисфункцией митохондрий, провоцируют развитие атеросклероза [2]. Исследование биоэнергетических параметров в клетках с мутациями мтДНК, провоцирующие дисфункцию митохондрий, а в дальнейшем и развитие атеросклероза, с учётом гетероплазмии и комплексного влияния мутаций имеет большое практическое значение в медицине для диагностики и прогнозирования нарушений [3].

Основная часть. Исследования проводились на цибридных линиях (цибриды), полученных из клеток острого моноцитарного лейкоза ТНР-1. Исследуемые цибридные линии отличаются от клеток ТНР-1 только митохондриями (а точнее набором и степенью выраженности мутаций мтДНК), полученными от людей с диагностированным атеросклерозом.

Для изучения возможных изменений клеточного метаболизма были выполнены исследования скорости деления клеток. Для изучения периода удвоения [4] исследуемые линии культивировали на стандартной среде, а также на среде без добавления глутамин и с добавлением олигомицина А, являющегося ингибитором комплекса V ЭТЦ. Результаты показали, что все исследуемые линии характеризуются различными потребностями в глутамине и ответами на внесение олигомицина А. Так, часть цибридных линий имела незначительное увеличение времени удвоения на среде без глутамин, в то время как другая часть показала высокую потребность в этом соединении, что говорит о важной роли глутамин в энергетическом обмене как субстрата для синтеза АТФ. Установлена прямая корреляция между мутацией 2 субъединицы комплекса I ЭТЦ m.5178C>A и культивированием на среде без глутамин. Однако добавление олигомицина А привело к резкому увеличению периода удвоения во всех цибридах, что показывает необходимость функционирования всех комплексов ЭТЦ, независимо от способа получения энергии.

Для оценки вклада окислительного фосфорилирования в продукцию АТФ были проведены респирометрические исследования скорости потребления клетками кислорода. Результаты эксперимента показали, что во всех исследуемых цибридных линиях относительно небольшая часть дыхания связана с синтезом АТФ. Выявлено, что дыхание после внесения олигомицина А коррелирует с мутацией rРНК m.12315G>A. Такая особенность характерна для клеток, в которых основным путем синтеза АТФ является гликолиз.

Для определения внутриклеточного рН использовали ратиометрический флуоресцентный зонд SNARF-1. Полученные данные показывают пониженную кислотность цитозоли по сравнению с клетками ТНР-1. Выявлена положительная корреляция с мутацией гена рРНК del652 мтДНК.

Для определения концентрации лактата в культуральной жидкости применяли ферментативный колориметрический метод, основанный на реакции Триндера. Выяснилось, что во всех цибридных линиях продукция лактата не больше, чем клетками ТНР-1.

Произведенные исследования линий цибридов показали большую разницу в метаболических параметрах клетки. Определение периода удвоения выявило линии, для

которых глутамин является важным участником процесса катаболизма. Проведенные респирометрические исследования показали, что в гликолитических клетках для нормальной жизнедеятельности также необходимо исправное функционирование ЭТЦ. Определение внутриклеточного рН и концентрации лактата в культуральной среде показало, что исследуемые цибридные линии характеризуются меньшей кислотностью цитозоли и продукцией лактата, что говорит о происходящих сдвигах метаболического профиля.

Выводы. Исследованы метаболические характеристики цибридных линий и определено влияние отдельных мутаций митохондриальной ДНК. Выявлено, что ассоциированные с атеросклерозом повреждения мтДНК смещают метаболический профиль клеток в сторону гликолиза, что характерно для атерогенного эффекта.

Список использованных источников:

1. Szczepanowska K., Trifunovic A. Different faces of mitochondrial DNA mutators // *Biochim. Biophys. Acta - Bioenerg.* 2015. Vol. 1847, № 11. P. 1362–1372.
2. Ciccarelli G. et al. Mitochondrial Dysfunction: The Hidden Player in the Pathogenesis of Atherosclerosis? // *International Journal of Molecular Sciences.* – 2023. – Т. 24. – №. 2. – С. 1086.
3. Shemiakova T. et al. Atherosclerosis as mitochondriopathy: Repositioning the disease to help finding new therapies // *Frontiers in Cardiovascular Medicine.* – 2021. – Т. 8. – С. 660473.
4. Remmo A et al Cell Tracking by Magnetic Particle Imaging: Methodology for Labeling THP-1 Monocytes with Magnetic Nanoparticles for Cellular Imaging. *Cells.* 2022;11(18):2892. doi: 10.3390/cells11182892