

Исследование дефектной митофагии на клетках моноцитоподобных цитоплазматических гибридов, несущих ассоциированные с атеросклерозом митохондриальные мутации

Научный руководитель – Косырева Анна Михайловна

Борисов Евгений Евгеньевич

Аспирант

Научно-исследовательский институт морфологии человека, Москва, Россия

E-mail: borisovevgenij5@gmail.com

Введение. В развитии атеросклероза важную роль играют хроническое воспаление и окислительный стресс [1], прогрессирование которых может быть связано с появлением мутаций в мтДНК [2]. Митохондрии, содержащие мутации, удаляются посредством митофагии, нарушение которой может привести к накоплению мутаций и к дальнейшему прогрессированию воспалительного процесса [3]. Для изучения вклада митохондриального генома в клеточные процессы часто используются цибриды – клетки с одинаковой ядерной ДНК и заданной исследователями мтДНК. Целью исследования было изучить активность митофагии в ответ на стимуляцию разобщителем FCCP в 2 линиях цибрид ТС-520 и ТС-522.

Материалы и методы. Уровень митофагии оценивали конфокальной микроскопией на микроскопе Leuca Stellaris, используя зонды MitoTracker и LysoTracker. Методом ПЦР-РВ оценивали уровень экспрессии генов-маркеров митофагии (PINK1, parkin, BNIP, NIX). Также мы сравнивали мембранный потенциал и уровень АФК и окисленных форм кардиолипина, используя проточный цитометр CytoFLEX и красители LumiTracker, H2DCFDA и MitoSLox. Кроме того, мы изучали накопление холестерина клетками после 24 часовой инкубации с ЛПНП из плазмы крови пациентов с атеросклерозом.

Результаты и обсуждение. Измеряя колокализацию окрашенных митохондрий и лизосом при помощи конфокальной микроскопии, мы зафиксировали увеличение уровня митофагии только в линии ТС-522 при инкубации с FCCP, тогда как в линии ТС-520 уровень митофагии снижался. Этот феномен был назван дефектом митофагии. По данным ПЦР-РВ в линии ТС-522 наблюдалось повышение уровня экспрессии генов-маркеров митофагии (PINK1, parkin, BNIP, NIX) а в линии ТС-520, напротив, их снижение. Другие эксперименты показали, что по сравнению с линией ТС-522 в клетках линии с дефектом митофагии ТС-520 мембранный потенциал ниже, кроме того в клетках ТС-520 образуется большее количество АФК и окисленных форм кардиолипина, и они накапливают холестерин в меньшем количестве при инкубации с ЛПНП. Стимуляция митофагии увеличивает мембранный потенциал в обеих линиях, но не влияет на накопление холестерина.

Заключение. Полученные результаты указывают на существование так называемого дефекта митофагии в виде отсутствия или даже снижения реакции на его активатор FCCP. Мы предполагаем, что этот дефект может играть важную роль в патогенезе атеросклероза, препятствуя эффективному процессу удаления митохондрий из моноцитов, участвующих в развитии воспалительных реакций при атеросклерозе.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 23-25-00237.

Источники и литература

- 1) Batty M., Bennett M.R., Yu E. The Role of Oxidative Stress in Atherosclerosis // Cells. 2022. 3843.

- 2) Orekhov A.N., Nikiforov N. G. et al. The Role of Mitochondrial Mutations in Chronification of Inflammation: Hypothesis and Overview of Own Data // *Life (Basel)*. 2022. 1153.
- 3) Zhang Y., Weng J. Mitophagy in atherosclerosis: from mechanism to therapy // *Front Immunol*. 2023. 1165507.