

Оксистерин-зависимая сигнализация в защите от митохондриальной дисфункции в скелетной мышце

Научный руководитель – Петров Алексей Михайлович

Каплюхина Ева Андреевна

Сотрудник

Казанский институт биохимии и биофизики Казанского научного центра РАН, Казань, Россия

E-mail: eva.korshak@mail.ru

Митохондриальная дисфункция, характеризующаяся повышенной продукцией активных форм кислорода (АФК), лежит в основе развития различных патологий скелетных мышц, в том числе мышечной дистрофии Дюшенна и спинальной мышечной атрофии. Кроме того, нарушение активности митохондрий связано с возрастным снижением двигательной и дыхательной активности.

В данной работе мы исследовали влияние антимицина А (АА), ингибитора III комплекса цепи переноса электронов (ЦПЭ), на функциональные параметры диафрагмы мышцы, а также способность 25-гидроксихолестерина (25-ГХ) модулировать нарушения, вызванные АА. Для каждой серии экспериментов размер выборки - $n=6-8$.

С помощью метода флуоресцентной микроскопии было выявлено, что АА (1 мкМ) вызывал увеличение флуоресценции сенсора продукции митохондриального супероксида, MitoSOX, что было подавлено прединкубацией 25-ГХ (1 мкМ). Ранее мы показали, что 25-ГХ стимулирует выход цитозольного Ca^{2+} из саркоплазматического ретикулума через активацию ИТФ-рецепторов и мембранного эстрогенового рецептора α ($ER\alpha$). В данном случае, хелатирование внутриклеточного Ca^{2+} медленным кальциевым буфером EGTA-AM (0,2 мМ) и ингибирование $ER\alpha$ с помощью ТРВМ (10 мкМ) устраняли подавляющий эффект 25-ГХ на сверхпродукцию АФК, вызванную АА.

АА увеличивал флуоресценцию сенсора перекисного окисления липидов (ПОЛ) и повышал уровень H_2O_2 во внеклеточном растворе, что было подавлено 25-ГХ. Аналогичные данные получены в отношении изменения потенциала митохондриальной мембраны. АА деполаризовал мембрану митохондрий, тогда как 25-ГХ препятствовал этому изменению поляризации митохондрий.

Апликация АА приводила к снижению флуоресценции сенсора митохондриального Ca^{2+} , Rhod-2, что также ингибировалось 25-ГХ. Кроме того, в условиях повышенного митохондриального Ca^{2+} , вызванного применением олигомицина А (2 мкМ), блокатора V комплексе ЭТЦ, оксистерин снижал его увеличенный уровень. Применение блокатора ИТФ-рецепторов (ТМВ-8) устраняло действие 25-ГХ.

Помимо прочего, АА оказывал негативное влияние на нервно-мышечную передачу, изменяя параметры миниатюрных потенциалов концевой пластинки (электрофизиологические эксперименты) и подавляя вызванный экзоцитоз. Эти нарушения были частично восстановлены 25-ГХ и зависели от внутриклеточного Ca^{2+} .

В отношении сократительной силы диафрагмы, АА снижал силу сокращения мышцы (метод тензометрии). Ранее мы обнаружили угнетающее действие 25-ГХ на силу сокращения, и этот эффект зависел от $ER\alpha$ и выхода Ca^{2+} из ИТФ-рецепторов. Интересно, что на фоне АА 25-ГХ дополнительно подавлял сократительные ответы сильнее, чем АА или 25-ГХ по отдельности.

Таким образом, АА вызывает избыточную продукцию митохондриальных АФК, снижение митохондриального потенциала и Ca^{2+} , повышение уровня внеклеточной H_2O_2 ,

ПОЛ, угнетение сократимости мышечных волокон и дефекты нервно-мышечного передачи. 25-ГХ предотвращал про-оксидантные эффекты АА и некоторые нервно-мышечные нарушения, вероятно, по пути ER α /ИТР-рецепторы/Ca²⁺. В следствие этого, 25-ГХ может выступать протектором скелетных мышц от митохондриальной дисфункции.

Поддержано грантом РНФ № 23-75-10022.