

ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА АКТИВНОСТЬ МИТОХОНДРИЙ ПРИ ОКИСЛИТЕЛЬНОМ СТРЕССЕ

*С.В. Глушен, Т.И. Никитина, Е.И. Кузнецова, И.В. Семак
Минск, БГУ*

Недавно проведенные исследования демонстрируют, что мелатонин оказывает стабилизирующий эффект на энергетику клетки [1]. В связи с этим целью данной работы была оценка защитного эффекта мелатонина на энергетическую функцию митохондрий при окислительном стрессе, вызванном пероксидом водорода.

Материал и методы. Объектом исследования служила культура НЕК-293. Для оценки энергетики митохондрий был использован флуоресцентный краситель родамин 123 (10 мкг/мл), интенсивность флуоресценции которого пропорциональна заряду на их внутренней мембране. Исследование препаратов проводили с помощью микроскопа AxioImager (Zeiss) под управлением программы Image-Pro Plus 6.0 (MediaCybernetics). Непосредственно перед этим в суспензию клеток добавляли бромид этидия (5 мкг/мл).

Результаты и их обсуждение. Полученные нами данные представлены на рис. 1 и 2. При воздействии на клетки пероксида водорода в концентрации 200 мкМ наблюдалось снижение интенсивности зеленой флуоресценции, что являлось признаком угнетения активности митохондрий (рис. 1А). Интенсивность красной флуоресценции, напротив, возрастала, что свидетельствовало об увеличении проницаемости плазмалеммы для бромида этидия, который обычно медленно проникает в живые интактные клетки [2].

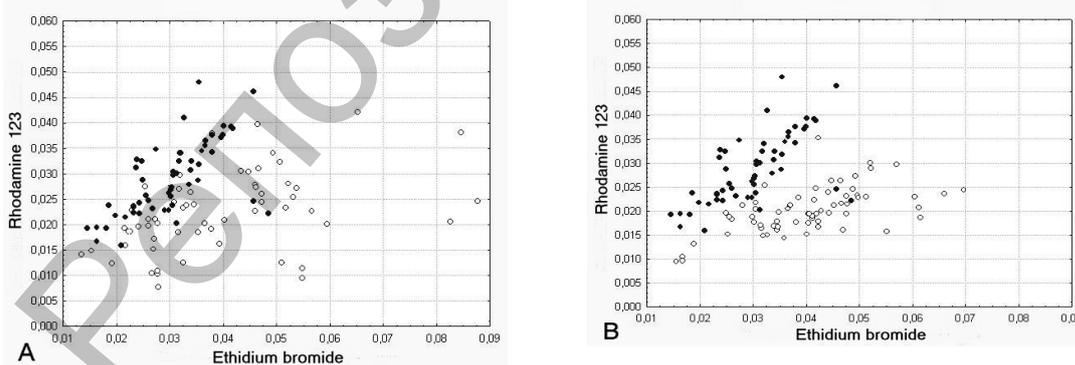


Рис.1. Распределение клеток НЕК-293 по средней интенсивности флуоресценции бромида этидия (ось X) и родамина 123 (ось Y) при обработке их пероксидом водорода в концентрациях 200 мкМ (А) и 500 мкМ (В). Клетки контроля обозначены черными, а эксперимента – белыми точками.

При повышении концентрации пероксида водорода до 500 мкМ отмеченные изменения становились более выраженными (рис. 1В). Некоторые клетки при этом полностью утрачивали зеленую флуоресценцию родамина 123 в цитоплазме, демонстрируя интенсивную красную флуоресценцию

бромид этидия в ядре. Такие клетки были идентифицированы нами как погибшие некрозом.

Воздействие на клетки пероксида водорода совместно с мелатонином в концентрации 200 мкМ каждый вызывало частичную нормализацию энергетической функции митохондрий (рис 2А). При повышении концентрации пероксида водорода и мелатонина до 500 мкМ наблюдалось практически полное восстановление активности митохондрий до контрольного уровня (рис. 2В).

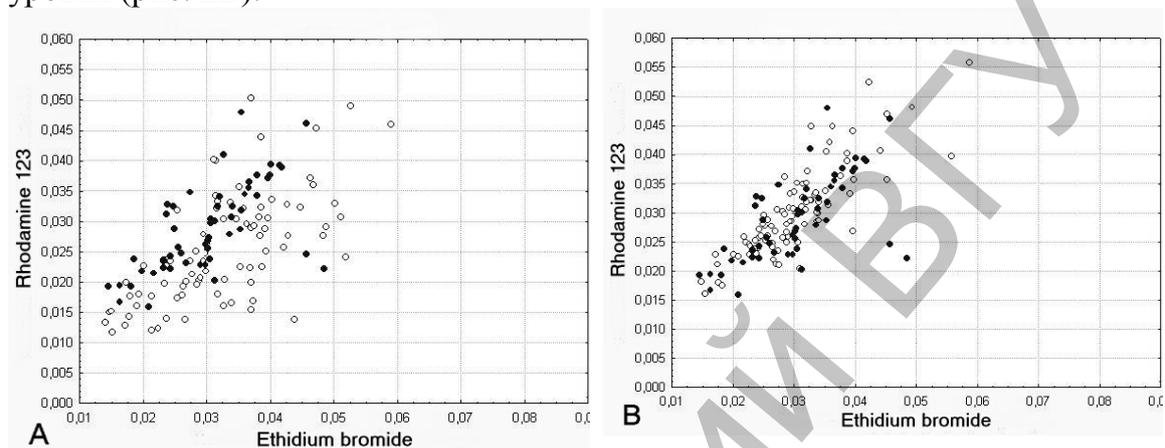


Рис.2. Распределение клеток НЕК-293 по средней интенсивности флуоресценции бромида этидия (ось X) и родамина 123 (ось Y) при обработке их пероксидом водорода и мелатонином в концентрациях 200 мкМ (А) и 500 мкМ (В) каждый. Клетки контроля обозначены черными, а эксперимента – белыми точками

Заключение. Таким образом, нами показано, что мелатонин способен полностью восстанавливать энергетическую функцию митохондрий, которая была подавлена пероксидом водорода.

Список литературы

1. Srinivasan V., Spence D.W., Pandi-Perumal S.R., Brown G.M., Cardinali D.P. Melatonin in mitochondrial dysfunction and related disorders. *Int. J. Alzheimer's Disease*, 2011, article ID 326320, 16 pp.
2. Tramier M., Kemnitz K., Durieux C., Coppey J., Denjean P., Pansu R.B., Coppey-Moisan M. Restrained torsional dynamics of nuclear DNA in living proliferative mammalian cells. *Biophys. J.*, 2000, 78, 2614–2627.