

СПЕКТРОСКОПИЯ КОМБИНАЦИОННОГО РАССЕЙЯНИЯ СВЕТА – НОВЫЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ АПОПТОЗА КЛЕТОК

Вчерашняя А.В., Мартинович И.В., Мартинович Г.Г., Шадыро О.И., Черенкевич С.Н.

Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь

В настоящее время среди основных механизмов гибели клеток выделяют некроз, апоптоз и аутофагию [1]. Апоптоз и аутофагию относят к физиологическим запрограммированным механизмам гибели клеток, тогда как некроз является непрограммируемой гибелью клеток, вызываемой действием повреждающих факторов [2, 3]. Некроз клеток организма может приводить к структурным и функциональным повреждениям органов и тканей, в то время как программируемая гибель является регулируемым локализованным процессом, что делает препараты, механизм действия которых основан на активации программируемой гибели клеток, более перспективными для современной противоопухолевой терапии. Разработка новых методов исследования молекулярных, биохимических и биофизических показателей, позволяющих дифференцировать различные типы гибели клеток, является необходимым этапом поиска эффективных противоопухолевых препаратов. В данной работе показано, что исследование внутриклеточного распределения цитохрома *c* методом спектроскопии комбинационного рассеяния света (КР) позволяет изучать ранние стадии апоптоза, что является важным преимуществом метода в сравнении с биохимическими и морфологическими методами изучения программируемой гибели клеток.

С применением методов спектроскопии КР и флуоресцентного анализа изучены механизмы эффекторной стадии запуска программируемой гибели клеток карциномы гортани человека линии HЕр-2 при действии тимохинона (2-изопропил-5-метил-1,4-бензохинона). Исследование внутриклеточного распределения цитохрома *c* проводили на основе анализа профиля интенсивности пика КР 750 см^{-1} , характерного для колебательной моды пиррольного кольца в молекуле цитохрома *c* [4]. Показано, что до стимуляции тимохиноном выявляется наличие пиков интенсивности в примембранных областях клеток, свидетельствующее о компарментализации исследуемого белка. При этом преимущественное накопление флуоресцентного зонда этилового эфира тетраметилпродамина указывает на локализацию митохондрий в примембранных областях контрольных клеток. Установлено, что добавление тимохинона приводит к внутриклеточному перераспределению цитохрома *c*, при этом в клетках, стимулированных тимохиноном, наблюдается относительно равномерное распределение интенсивности пика КР 750 см^{-1} , что указывает на выход цитохрома *c* из матрикса митохондрий в цитозоль клетки. Показано, что высвобождение цитохрома *c* из митохондрий при действии тимохинона сопровождается снижением митохондриального потенциала, что свидетельствует об активации программируемой гибели опухолевых клеток по митохондриально-опосредованному пути. Полученные результаты указывают на перспективность применения метода спектроскопии КР в исследовании программируемой гибели клеток и возможность его применения для оценки эффективности противоопухолевых препаратов.

Библиографические ссылки

1. Danial N.N., Korsmeyer S. J. Cell Death: Critical Control Points // Cell. 2004. Vol. 116. P. 205–219.
2. Doherty J., Baehrecke E. H. Life, Death, Autophagy // Nat. Cell. Biol. 2018. Vol. 20. P. 1110–1117.
3. Chen Q., Kang J., Fu C. The independence of and associations among apoptosis, autophagy, and necrosis // Sig. Transduct. Target. Ther. 2018. Vol. 3. N. 18. P. 1–11.
4. Okada M., Smith N., Palonpon A., et al. Label-free Raman Observation of Cytochrome *c* Dynamics during Apoptosis // P. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. Vol. 109. P. 28–32.