

ОЦЕНКА СВЯЗЫВАНИЯ И ПЕРОКСИДАЗНОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСОВ [CytC - ДОРА]. РОЛЬ ФОСФАТИДНОЙ КИСЛОТЫ В МОЛЕКУЛЯРНЫХ МЕХАНИЗМАХ КЛЕТОЧНОЙ ГИБЕЛИ

Конюхова С.П., Степанов Г.О., Осипов А.Н.

*Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия*

На сегодняшний день управление механизмами программируемой смерти клетки, такими как апоптоз и ферроптоз, может лежать в основе лечения и профилактики многих социально значимых заболеваний. В развитии запрограммированной клеточной гибели важную роль играет окисление фосфолипидов мембран. Но до сих пор не все механизмы ясны: так, взаимодействие цитохрома *c* (CytC) с кардиолипин-содержащими мембранами ведет к увеличению пероксидазной активности CytC и запускает апоптоз [1, 2]. Непонятно, почему при наличии кардиолипина (CL) и CytC в составе митохондрий нормальных клеток они не погибают самопроизвольно. Возможно другие фосфолипиды, например, фосфатидная кислота (РА), которая структурно похожа на CL, участвуют в развитии этих процессов?

Цель настоящего исследования – сравнение способности CytC формировать комплексы с РА и CL и изменение пероксидазной активности этих комплексов. Изменение конформации CytC при его взаимодействии с фосфолипидами приводит к резкому повышению его пероксидазной активности, что можно показать при образовании феноксильного радикала этопозида методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР). Связывание CytC с мембранами было измерено методом спектрофлуоресценции с использованием флуоресцентной метки NBD(C6)PC на фосфолипидах.

В результате измерений тушения флуоресцентно-меченных фосфолипидов была показана способность CytC взаимодействовать с мембранами, содержащими CL или РА, причем с РА более выражено (в 1,6 раз). Одновременно, CytC-фосфолипидные комплексы изучались по способности влиять на пероксидазную активность. Данные измерения были выполнены при помощи метода ЭПР. Присутствие как CL, так и РА демонстрирует увеличение пероксидазной активности в 1,8 и 1,7 раз соответственно.

Таким образом, РА, как и CL, может приводить к резкому увеличению пероксидазной активности CytC, чему предшествует в 1,6 раз более выраженное, чем у CL, связывание CytC с биологическими мембранами. А повышение пероксидазной активности CytC способствует изменению проницаемости, порообразованию мембран митохондрий, выходу железа из CytC и развитию клеточной гибели. Данные наблюдения позволяют предполагать значимую роль РА в процессах инициации гибели клеток.

Библиографические ссылки

1. Vladimirov Y.A., Proskurnina E.V., Alekseev, A.V. Molecular mechanisms of apoptosis. Structure of cytochrome *c*-cardiolipin complex // Biochemistry Moscow. 2013. Vol. 78. No. 10. P. 1391–1404.
2. Stepanov G.O., Gnedenko O.V., Osipov A.N. et. al. Evaluation of cytochrome *c* affinity to anionic phospholipids by means of surface plasmon resonance // FEBS Letters. 2006. Vol. 583. P. 97–100.