

**Антиоксидантные свойства 25-гидроксихолестерина по Ca-зависимому
митохондриальному пути**

Научный руководитель – Петров Алексей Михайлович

Кузнецова Ева Андреевна

Студент (бакалавр)

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной
медицины и биологии, Кафедра физиологии человека и животных, Казань, Россия

E-mail: eva.korshak@mail.ru

Экспрессия холестерин 25-гидроксилазы макрофагами и дендритными клетками под действием про-воспалительных цитокинов и лигандов толл-подобных рецепторов указывает на роль продукта этого фермента - 25-гидроксихолестерина (25-ГХ) в иммунном ответе. Также выявлено повышение уровня 25-ГХ при двигательных и нейродегенеративных заболеваниях. Однако о влиянии 25-гидроксихолестерина на нервно-мышечную передачу и функционирование скелетных мышц известно немного.

Ранее мы продемонстрировали способность 1 мкМ 25-гидроксихолестерина усиливать экзоцитоз синаптических везикул в нервно-мышечном синапсе мышцы посредством выброса кальция из ЭПС с участием инозитол-трифосфатных (ИТФ) рецепторов. Также мы обнаружили, что 25-ГХ тем же механизмом повышает цитозольный кальций в мышечных волокнах. Ca²⁺, освобождаемый через ИТФ-рецепторы ЭПС, по некоторым данным может влиять на митохондрии в возбудимых клетках.

В данной работе мы фиксировали изменения уровня продукции активных форм кислорода (АФК) (индикатор митохондриального супероксида MitoSOX и MitoTracker для локализации митохондрий), митохондриальный кальций и перекисное окисление липидов (ПОЛ; IT sensor) в ответ на 25-гидроксихолестерин в диафрагме мышцы.

25-ГХ (1 мкМ) снижал флуоресценцию MitoSOX на 27% относительно базового уровня (n=11, p[U+02C2]0.001). Наоборот, модулирование митохондриальной дисфункции за счет блокады III комплекса электрон транспортной цепи (антимитин А) существенно усиливало продукцию митохондриальных АФК на 23% относительно базового уровня (n=20, p[U+02C2]0.001) и вызвало ПОЛ мембраны. 25-гидроксихолестерин был способен предотвратить вызванное антимитином А увеличение генерации АФК митохондриями и ПОЛ (n=5, p>0.05). Однако 25-ГХ терял это антиоксидантное действие при индукции тетанических сокращений за счет стимуляции (1 мин, 20 Гц) диафрагмальной мышцы (n=5, p>0.05). Такая активность 25-гидроксихолестерина в период покоя, но не в момент “нагрузки” мышцы может указывать на Ca-зависимую регуляцию митохондрий. В подтверждение этому было оценено изменение продукции АФК под влиянием 25-ГХ при хелатировании внутриклеточного Ca²⁺ (буфером EGTA-AM). В результате наблюдалась потеря способности 25-гидроксихолестерина снижать выработку АФК митохондриями (n=8, p>0.05).

С помощью митохондриального кальциевого индикатора Rhod-2, AM было выявлено накопление Ca в митохондриях. В присутствии 25-ГХ флуоресценция Rhod-2, AM наоборот снижалась на 24% (n=8, p[U+02C2]0.05), указывая на выброс Ca из митохондрий при действии 25-гидроксихолестерина. Следовательно, вызванное 25-ГХ увеличение цитозольного Ca происходит не только из ЭПС, но и из митохондрий; затем это повышение кальция запускает механизм защиты митохондрий от сверхпродукции АФК и ПОЛ.

Работы выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ 20-04-00077 А.