

МОГУТ ЛИ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ БЫТЬ ДОНОРАМИ ОРГАНЕЛЛ: МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ МИТОХОНДРИЙ

*Е.Ю. Плотников^{1,2}, В.А. Бабенко^{1,2}, Д.Н. Силачев^{1,2}, И.Б. Певзнер^{1,2},
Л.Д. Зорова^{1,2}, Г.Т. Сухих², Д.Б. Зоров^{1,2}*

¹НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского МГУ
им. М.В. Ломоносова, Москва, e-mail: plotnikov@belozersky.msu.ru

²Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии
и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, Москва

Транспорт митохондрий в клетках впервые обнаружен в нейронах, имеющих длинные аксоны, где митохондрии способны перемещаться из тела клетки на периферию, в область синаптических контактов (антероградный транспорт) и обратно с периферии в перинуклеарную зону (ретроградный транспорт). Считается, что подобное перемещение митохондрий служит для передачи энергии в места наибольших энергозатрат. Относительно недавно, в 2006 году, была открыта возможность межклеточного транспорта митохондрий. Активное исследование этого транспорта началось вместе с открытием туннельных нанотрубочек (ТНТ) – межклеточных структур, для которых наиболее широко описаны механизмы транспорта органелл между клетками. Более того, некоторые исследователи считают, что наличие ТНТ является необходимым и достаточным условием транспорта митохондрий. Интересно, что большинство работ, описывающих передачу митохондрий между клетками, касается стволовых клеток, хотя есть свидетельства транспорта митохондрий и между другими типами клеток, например, опухолевыми. Поскольку существует множество заболеваний, связанных с нарушением митохондриальных функций, очень привлекательной становится возможность замены неправильно функционирующих митохондрий здоровыми органеллами донорских клеток, в качестве которых могут выступать стволовые клетки.

В течение нескольких последних лет мы изучали передачу митохондрий между мезенхимальными мультипотентными стромальными клетками (ММСК) и различными типами дифференцированных соматических клеток: нейронами, кардиомиоцитами, клетками почечного эпителия.

Передачу митохондрий изучали на модели сокультивирования ММСК с дифференцированными клетками, а передачу митохондрий оценивали с помощью конфокальной микроскопии и проточной цитометрии. Чтобы дифференцировать митохондрии в разных типах клеток, их окрашивали специфическими митохондриальными зондами или генетически кодируемыми белками, имеющими митохондриальный адрес.

При анализе совместной культуры клеток мы наблюдали передачу митохондрий из ММСК в нейроны, почечный эпителий и кардиомиоциты. Например, после 24 ч сокультивирования ММСК и нейронов митохондрии, несущие специфический красный флуоресцентный белок мито-DsRed, наблюдались в нейронах, собственные митохондрии которых имели зеленый флуоресцентный белок мито-GFP, однако обратной картины не наблюдалось. Аналогичные наблюдения были сделаны для кардиомиоцитов и почечного эпителия. При этом в случае почечного эпителия была использована гетерологическая система, при которой человеческие ММСК сокультивировали с почечными клетками крысы. В этом случае передача митохондрий подтверждалась иммунофлуоресценцией с видоспецифическими антителами против цитохромоксидазы человека. Крысиные клетки исходно не окрашивались этими антителами, тогда как после сокультивирования в них появлялись митохондрии, позитивные по цитохромоксидазе человека, то есть переданные из человеческих клеток.

Интересно, что параллельно с транспортом митохондрий наблюдалась и передача между клетками низкомолекулярных компонентов цитоплазмы. При этом направление транспорта цитоплазмы было различным в разных клеточных системах. При сокультивировании ММСК и кардиомиоцитов цитоплазма передавалась в обоих направлениях: и из ММСК в кардиомиоциты, и обратно. При сокультивировании с почечным эпителием преобладал транспорт цитоплазмы из эпителиоцитов в ММСК, а при сокультивировании с нейронами транспорта цитоплазмы из ММСК в нейроны не наблюдалось вообще. Однако во всех системах направление передачи митохондрий было одинаковым – из ММСК в клетку-реципиент, хотя эффективность такого транспорта была довольно низкой: не более 10% клеток в культуре получали митохондрии от ММСК.

Мы обнаружили, что уровень белка Miro1 (Rho-ГТФазы, ответственной за транспорт митохондрий) увеличивался вдвое в ММСК, сокультивированных с нейронами. Основываясь на этом наблюдении, мы получили культуру ММСК, сверхэкспрессирующую белок Miro1. При их сокультивировании с нейральными клетками число клеток, получивших митохондрии от ММСК, увеличивалось в два раза.

Очень важным явилось наблюдение восстановления биоэнергетических функций после передачи митохондрий. Исследовались нейрон-подобные клетки РС12, в которых митохондриальную ДНК повреждали бромистым этидием. Такие клетки из-за нарушенного дыхания основную часть энергии получают путем гликолиза, в результате чего увеличивается продукция лактата. После сокультивирования этих клеток с ММСК количество лактата в среде снижалось, что говорит о восстановлении процессов окислительного фосфорилирования.

Таким образом, мы показали, что ММСК могут служить донорами функционально активных митохондрий, передавая их в различные соматические клетки. Такая передача митохондрий, вероятно, влияет на восстановление функции митохондрий в клетках-реципиентах, нарушенной в условиях стресса. Возможно, именно транспорт митохондрий из ММСК в поврежденные клетки обеспечивает различные положительные эффекты клеточной терапии при трансплантации ММСК на фоне различных патологий, связанных с повреждением митохондрий.

Работа частично поддержана грантом Президента РФ МД-2065.2018.4.