

МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ МИТОХОНДРИЙ

Обзор

© 2015 Е.Ю. Плотников^{1*}, В.А. Бабенко², Д.Н. Силачев¹,
Л.Д. Зорова³, Т.Г. Хряпенкова¹, Е.С. Савченко⁴,
И.Б. Певзнер^{1,2}, Д.Б. Зоров¹

¹ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Институт физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского,
119991 Москва; факс: +7(495)939-0338,
электронный адрес: plotnikov@genebee.msu.ru

² Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
факультет биоинженерии и биоинформатики, 119991 Москва

³ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Международный учебно-научный лазерный центр, 119991 Москва

⁴ Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, 119991 Москва

Поступила в редакцию 02.12.14

Описанное в последние годы явление межклеточного транспорта митохондрий привлекает внимание как фундаментальной науки, так и клинической медицины. Среди последствий передачи митохондрий – изменение направления дифференцировки стволовых клеток, перепрограммирование дифференцированных клеток и восстановление утраченных митохондриальных функций в клетках-реципиентах. В то же время механизмы транспорта митохондрий между клетками и условия, стимулирующие реализацию этого феномена, изучены пока недостаточно. Остается открытым вопрос возможности данного феномена *in vivo*. Кроме того, неясно, как на транспорт митохондрий в соматических клетках влияет система убиквитинирования, которая, например, в яйцеклетке при оплодотворении уничтожает «чужеродные» митохондрии сперматозоида. Исследование этих процессов может дать мощный стимул для развития стратегий лечения митохондриально-ассоциированных патологий и открыть новое направление терапевтического воздействия, основанного на «трансплантации митохондрий».

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: митохондрии, стволовые клетки, аксональный транспорт, туннельные нанотрубочки, дифференцировка.

ТРАНСПОРТ МИТОХОНДРИЙ ВНУТРИ КЛЕТКИ

Транспорт митохондрий в клетках впервые обнаружен в нейронах, имеющих длинные аксоны [1]. Было выявлено, что митохондрии в таких клетках 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. Резкие изменения концентрации ионов натрия, калия и кальция в цитоплазме нейронов и других электровозбудимых клеток требуют затраты большого количества энергии для работы систем транспорта ионов и проведения нервного импульса [2].

В протяженных клетках места, наиболее обеспеченные субстратами и кислородом (часть клетки, прилегающая к кровеносному капилляру), могут быть значительно удалены от мест наибольшего энергопотребления. Проблема передачи энергии в этом случае может быть решена двумя способами. В первом варианте протяженная митохондрия играет роль электрического кабеля, передавая запасенную при дыхании энергию в виде трансмембранного потенциала [3].

Принятые сокращения: ТНТ – туннельные нанотрубочки, ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, iPS – индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, мтДНК – митохондриальная ДНК.

* Адресат для корреспонденции.

В другом случае могут транспортироваться сами митохондрии, играя роль передвижных электростанций.

Аксональный транспорт митохондрий реализуется за счет системы микротрубочек, по которым через набор адапторных белков и белков-моторов осуществляется передвижение митохондрий в направлении синапсов и обратно [4].

Митохондриальное движение очень важно для нормального функционирования нейронов, а также самих митохондрий [5]. Транспорт служит не только для доставки митохондрий в зоны с высоким метаболизмом, но и для удаления поврежденных митохондрий (в частности, из-за избыточной продукции активных форм кислорода), которые должны быть доставлены к аутофагосомам.

Дефекты аксонального транспорта очень часто ассоциированы с различными неврологическими заболеваниями, например, с болезнью Альцгеймера [6].

МЕЖКЛЕТОЧНЫЙ ТРАНСПОРТ МИТОХОНДРИЙ: МЕХАНИЗМЫ

Интересно, что активное исследование митохондриального транспорта между клетками началось вместе с открытием туннельных нанотрубочек (ТНТ) – межклеточных структур, для которых наиболее широко описаны механизмы транспорта органелл между клетками. Более того, некоторые исследователи считают [7], что наличие ТНТ является необходимым и достаточным условием транспорта митохондрий, о чем будет сказано ниже.

ТНТ представляют собой тонкие, ограниченные плазматической мембраной тяжи цитоплазмы, соединяющие клетки. Диаметр этих структур составляет 100–800 нм, а длина – до 100 мкм [8]. Формирующиеся ТНТ сначала напоминают филоподии, но, когда достигают соседней клетки и сливаются с ее мембраной, то образуют прямые неветвящиеся нити, не связанные с субстратом. В составе ТНТ находят F-актин и моторные белки [8, 9], что говорит о возможности активного транспорта по этим структурам. Изначально описанные для клеток феохромоцитомы РС12 [9, 10], ТНТ затем были обнаружены в линиях клеток почки [11], различных типах иммунных клеток [12–14], гематопоэтических стволовых клетках [15], между эндотелиальными прогениторными клетками и кардиомиоцитами [16]. Мы также показали образование ТНТ между кардиомиоцитами и мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками (ММСК) [17], а затем между ММСК и

эпителиоцитами почечных канальцев [18]. К настоящему времени структуры, характеризующиеся как ТНТ, описаны для многих типов межклеточных взаимодействий, но в большинстве случаев по крайней мере одним из партнеров является стволовая клетка [7].

Во многих исследованиях была показана возможность передачи по ТНТ органелл, в т.ч. митохондрий [7, 9, 10, 19]. В ряде случаев напрямую наблюдали движение митохондрий внутри нанотрубочек [16, 17]. Передача митохондрий может наблюдаться либо в уже сформированных ТНТ, либо в процессе формирования ТНТ, когда сначала образуется отросток у клетки-донора, затем он вытягивается и сливается с мембраной клетки-реципиента, образуя ТНТ [7–9]. Как уже говорилось выше, считается, что наличие ТНТ является необходимым и достаточным условием транспорта митохондрий. Необходимость ТНТ для транспорта органелл доказана несколькими исследованиями, в которых создавались условия, препятствующие формированию этих структур, например, интенсивная вибрация культуры или присутствие химических ингибиторов образования ТНТ, таких как цитохалазин D [9–11]. В этих случаях транспорт митохондрий не происходил или снижался в соответствии с тем, насколько снижалось число ТНТ. Достаточность ТНТ для передачи органелл показана в условиях охлаждения культуры, когда другие возможные механизмы переноса митохондрий (эндоцитоз, экзоцитоз, фагоцитоз) блокируются, а нанотрубочки не разрушаются и обеспечивают транспорт [9, 11].

Несмотря на то, что механизмы транспорта митохондрий по ТНТ требуют дальнейшего изучения, считается, что для каждой конкретной нанотрубочки органеллы могут двигаться лишь в одном направлении – от клетки, которая образовала эту ТНТ, в клетку, которая получила нанотрубочку, но не наоборот [9]. Органеллы передаются за счет взаимодействия миозина с F-актиновым цитоскелетом нанотрубочки. Некоторые исследования указывают на то, что блокирование миозина может препятствовать передаче органелл, в то же время транспорт может быть усилен за счет ингибирования ретроградного движения миозина [11]. Это говорит о том, что существует сложное взаимодействие механизмов anterogradного и ретроградного движения органелл в направлении клетки-реципиента. Хотя целостная картина регуляции транспорта митохондрий по-прежнему не составлена, известен ряд участвующих в этом процессе белков. Так, точно известно, что в движении митохондрий участвуют Rho GTPазы [20, 21], в то время как β -катенин и E-кадгерин, скорее все-

го, отсутствуют в ТНТ [22]. Белки, которые присоединяют органеллы к миозину или поддерживают движение органелл в нанотрубочке, пока не идентифицированы, но уже имеется некое подобие «протеома туннельных нанотрубочек», состоящего из ~275 белков [23].

Наблюдаемое усиление межклеточного транспорта митохондрий при различных видах стресса [24, 25] связано, скорее, не с влиянием на механизмы самого транспорта, а с изменением формирования ТНТ. Большинство исследователей наблюдали усиление образования ТНТ при закислении среды, гипергликемии, удалении сыворотки или добавлении токсических агентов [24]. В культуре гиппокампальных нейронов и астроцитов образование нанотрубочек усиливалось при активации р53-зависимых сигнальных путей, а направление их роста зависело от градиента белка S100A4. Количество этого белка каспаз-зависимым образом снижается в поврежденных нейронах, которые становятся ТНТ-образующими клетками, тогда как клетки с высоким уровнем S100A4 становятся клетками-реципиентами [25].

Известно, что ТНТ не являются *in vitro* феноменом, подобные структуры, а значит и транспорт митохондрий через них, наблюдаются и *in vivo*. Нанотрубочки обнаружены в сердце мыши между кардиомиоцитами и фибробластами [26], некоторых опухолях у человека [27] и дендритных клетках роговицы глаза [28]. Транспорт митохондрий *in vivo* был продемонстрирован пока лишь в нескольких работах. В случае передачи митохондрий из ММСК в клетки альвеолярного эпителия при воспалительном повреждении этот процесс был сопряжен с формированием ТНТ и зависел от активности ряда соответствующих белков, в частности Rho ГТФаз [21, 29]. Однако в другом описанном случае переноса митохондрий из меланоцита в кератиноцит он происходил без формирования ТНТ путем отшнуровывания от меланоцита везикул, содержащих митохондрии, и фагоцитоза их кератиноцитом [30]. Таким образом, в организме существует, вероятно, несколько механизмов передачи митохондрий между клетками, и эти механизмы могут отличаться от описанных *in vitro*.

Следует упомянуть и некоторые другие примеры транспорта митохондрий за пределы клетки. В частности, было показано, что у простейших *Tetrahymena thermophila* происходит выброс из клетки митохондрий в виде интактных органелл при тепловом шоке [31]. Механизм такого выброса митохондрий остается неизвестным, однако показано, что он является кальций-зависимым. Аналогичные наблюдения выброса митохондрий из клеток при различных стрессах

впервые описаны еще в 1968 г. [32], когда был показан выброс поврежденных митохондрий из ретикулоцитов. Затем высвобождение митохондрий или их фрагментов было обнаружено при апоптозе фибробластов [33] и у клеток HeLa, обработанных разобщителями окислительного фосфорилирования и ингибиторами дыхания [34].

Однако подобный выброс митохондрий, скорее всего, относится к системе элиминации митохондрий при митоптозе, и в его основе лежат другие механизмы, чем при транспорте митохондрий между клетками.

ПОСЛЕДСТВИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА

Повышение жизнеспособности клеток при стрессе. Межклеточный транспорт митохондрий был показан во многих моделях, связанных с повреждением клеток [24, 25]. Наиболее яркие результаты передачи митохондрий были получены на модели линии клеток легочной аденокарциномы A549, лишенных митохондрий в результате повреждения мтДНК при двухнедельной обработке бромистым этидием. Утрата митохондрий приводила к тому, что такие клетки могли пролиферировать только в специальной среде с добавками пирувата и уридина. При сокультивировании таких клеток с ММСК последние передавали свои митохондрии в клетки A549. Результатом такой передачи явилось восстановление аэробного дыхания в безмитохондриальных клетках A549, а также восстановление способности пролиферировать в стандартной среде культивирования [35]. Таким образом, нормально функционирующие митохондрии из ММСК передавались в лишенные митохондрий клетки линии A549, и последние начинали производить АТФ не только гликолитически, но и при помощи окислительного фосфорилирования, кроме того, функциональные митохондрии обеспечивали синтез пиримидиновых нуклеотидов, которые без митохондрий не синтезируются.

В другом исследовании транспорт митохондрий из ММСК в клетки эпителия легких защищал их от эндотоксин-индуцированной гибели, сохранял нормальный уровень продукции АТФ и предотвращал повреждение легких *in vivo*. При этом было показано, что положительные эффекты связаны именно с транспортом функционирующих митохондрий, поскольку при дисфункции митохондрий защита от легочного повреждения исчезала. Интересно, что при этом *in vivo* часто наблюдалась передача практически

всей популяции митохондрий из ММСК в легочный эпителий, что сопровождалось восстановлением его функций [29]. Эти данные великолепно подтверждены в недавнем исследовании [21], продемонстрировавшем не только зависимость восстановления эпителия легких от транспорта митохондрий из ММСК, но и выявившем наиболее вероятный механизм такого транспорта по ТНТ. В данной работе была показана прямая зависимость как транспорта митохондрий, так и реализации положительных эффектов ММСК на альвеолярный эпителий от функционирования Miro1 – Rho ГТФазы, обеспечивающей передвижение митохондрий вдоль цитоскелета нанотрубочки.

Существует еще ряд исследований, указывающих на то, что транспорт митохондрий усиливается при стрессорном воздействии на клетки. Так, Ясуда с соавт. показали, что при сокультивировании клеток эндотелия HUVEC и эндотелиальных прогениторных клеток около 17% клеток эндотелия получают митохондрии от прогениторных клеток через 24 ч культивирования. Если же клетки HUVEC подвергать токсическому воздействию адриамицина, то доля клеток, получивших митохондрии, возрастает вдвое [36]. Гиппокампаальные нейроны и астроциты начинали формировать ТНТ и, вероятно, передавать митохондрии только при удалении сыворотки из среды или при обработке перекисью водорода [25]. А в работе Чо с соавт. [37] было показано, что мезенхимальные стволовые клетки передают митохондрии в клетки остеосаркомы, только если клетки-реципиенты были полностью лишены митохондрий путем обработки бромистым этидием. При этом трансфекция клеток-реципиентов мутантной мтДНК, приводившая к частичной дисфункции митохондрий, не индуцировала транспорт митохондрий. Таким образом, для передачи митохондрий в большинстве случаев нужна практически полная элиминация митохондрий в клетке-реципиенте.

Наконец, в недавнем исследовании было показано, что ММСК, полученные из индуцированных плюрипотентных клеток (iPS), способны передавать митохондрии в клетки эпителия легких и снижать их повреждение, вызванное сигаретным дымом [38]. Более того, приводятся доказательства того, что эффективность в предотвращении повреждения легочного эпителия может быть связана с транспортом митохондрий. Показано, что ММСК, полученные из iPS, более эффективно передают митохондрии в эпителий, чем ММСК взрослых доноров, и эти же клетки индуцируют более выраженную защиту от альвеолярной деструкции при введении животным.

Хотя большинство исследований указывает на положительные эффекты транспорта митохондрий, показано, что иногда донорские митохондрии могут оказывать токсическое действие. Отсу с соавт. [39] обнаружили, что ММСК могут вызывать апоптоз эндотелия при сокультивировании. Этот процесс сопровождался передачей митохондрий из ММСК в эндотелий. Авторы предположили, что митохондриальный транспорт является важной составляющей контактной цитотоксичности ММСК в модели подавления ангиогенеза.

Перепрограммирование клеток. Мы были одними из первых, кто показал, что транспорт митохондрий между клетками опосредует дифференцировку стволовых клеток [17, 18]. При сокультивировании ММСК с кардиомиоцитами мы продемонстрировали направленный транспорт митохондрий и, одновременно, экспрессию кардиоспецифичных белков, в частности тяжелой цепи β -миозина в ММСК. Аналогичные исследования при сокультивировании почечного эпителия и ММСК также выявили направленный транспорт митохондрий и начало дифференцировки ММСК по пути эпителиоцитов.

Изменения в ММСК также наблюдались при сокультивировании их с гладкомышечными клетками [40]. В этом случае транспорт митохондрий из гладкомышечных клеток вызывал усиление пролиферации ММСК, тогда как блокирование образования нанотрубочек приводило к отмене этого эффекта. Усиление пролиферации также не происходило, если транспортировались нефункциональные митохондрии, полученные в результате предварительной обработки клеток бромистым этидием.

Обратный эффект был продемонстрирован на мышечных кардиомиоцитах и человеческих ММСК [41]. При сокультивировании зрелых кардиомиоцитов со стволовыми клетками, выделенными из жира или костного мозга, передача митохондрий в кардиомиоциты приводила к их частичной дедифференцировке. Кардиомиоциты приобретали более прогениторный фенотип в результате слияния со стволовыми клетками и передачи из них митохондрий, причем этот эффект также требовал функционирующих митохондрий, т.к. отменялся при обработке ММСК бромистым этидием.

Наконец, поскольку имеются данные о переносе митохондрий между опухолевыми клетками [22, 27], существует вероятность влияния переноса и на пролиферацию или дифференцировку опухолевых клеток, однако эта гипотеза еще ожидает своей проверки.

Контроль обмена митохондриями – убиквитинирование. При рассмотрении проблемы меж-

клеточного транспорта митохондрий возникает вопрос, насколько часто это происходит *in vivo*, и не является ли наблюдаемый *in vitro* обмен митохондриями не более чем артефактом клеточного культивирования. С другой стороны, если явление межклеточного транспорта органелл действительно присуще многим клеткам организма, то почему не наблюдаются очевидные последствия такого транспорта: постоянный обмен митохондриями между самыми разными типами тканей, поддержание постоянного уровня гетероплазмы мтДНК, отсутствие сегрегации митохондрий в разных тканях. Однако явление сегрегации митохондрий, особенно в эмбриогенезе, хорошо описано [42], а множество заболеваний, связанных с повреждением митохондрий (например, любые ишемические патологии) отнюдь не демонстрирует способности клеток в ткани к восстановлению за счет донирования митохондрий от здоровых клеток в поврежденные.

Решение этих несоответствий лежит, очевидно, в системе поддержания постоянства состава митохондрий клетки, самое яркое проявление которой – наличие материнского митохондриального наследования у всех млекопитающих. Известно, что большинство животных наследуют митохондрии только по материнской линии (за исключением редких случаев «утечки отцовской наследственности» [43, 44]), и клетки потомков никогда не содержат митохондрии отца. Однако в процессе оплодотворения яйцеклетки в нее из сперматозоида всегда попадает некоторое количество отцовских митохондрий. Хотя число этих митохондрий мало (около сотни митохондрий у человека), тем не менее, их должно быть достаточно для выявления отцовской мтДНК в клетках развивающегося эмбриона. Интересно, что именно передача митохондрий сперматозоида в процессе оплодотворения является самым распространенным случаем межклеточного переноса митохондрий, который был известен задолго до описания передачи митохондрий через ТНТ. Последствия этой передачи также общеизвестны – на сроках от 1 до 4-го делений зиготы (в зависимости от вида животного) отцовские митохондрии полностью элиминируются из всех клеток зародыша [45]. Механизм этой элиминации заключается в мечении отцовских митохондрий убиквитином и направлении их в протеасомы или аутофагосомы. В работах Сутовски [46, 47] на макаках-резус, коровах и мышах было показано, что митохондрии сперматозоида, попав в цитоплазму ооцита, сразу подвергаются убиквитинированию и последующей деградации. Механизм деградации включает в себя, с одной стороны, направление

убиквитинированных митохондрий в 26S протеасомы, а с другой – формирование фагофоров, затем аутофагосом, содержащих митохондрии, слияния их с лизосомами и протеолитическое расщепление митохондрии [45]. В случае аутофагосомальной деградации митохондрий сигналом также служит убиквитин, который присоединяется к белкам митохондрии, а затем к нему по каскадному механизму присоединяется еще ряд белков, отвечающих за деградацию.

Интересно, что убиквитинирование белков митохондрий сперматозоида наблюдается и в процессе сперматогенеза [47, 48], когда значительная часть исходных митохондрий сперматогония оказывается элиминированной в полярном теле. Более того, в ряде случаев показано, что отцовские митохондрии, попавшие в ооцит, уже имеют на своих белках присоединенный убиквитин. Таким образом, попадая в яйцеклетку, митохондрии сперматозоида могут уже нести «черную метку», сразу же определяющую их судьбу [47, 49].

В то же время было показано, что в случае межвидового скрещивания у коров митохондрии сперматозоида не убиквитинируются [46] в яйцеклетке, и их присутствие наблюдается вплоть до 8-клеточной стадии, когда обычно все отцовские митохондрии уже уничтожены [49, 50]. Это также подтверждается выявлением отцовской мтДНК в клетках межвидовых гибридов у мышей [51]. Таким образом, механизм элиминации митохондрий содержит видоспецифические элементы, а также, безусловно, элементы, специфичные для пола, поскольку система деградации селективно атакует отцовские митохондрии, не затрагивая собственные митохондрии ооцита.

В свете вышесказанного следует по-новому взглянуть на сообщения об обмене митохондриями в культуре клеток в случае транспорта их через ТНТ, а также в других случаях, например, при слиянии клеток, часто наблюдаемом между стволовыми и дифференцированными клетками. С одной стороны, феномен обмена митохондриями в культуре может быть связан с отличием митохондрий стволовых клеток от митохондрий других соматических клеток, например, тем, что сайты убиквитинирования у них каким-то образом замаскированы и не подвергаются атаке убиквитин лигазы. В этой связи обращает на себя внимание тот факт, что практически все имеющиеся на сегодняшний момент сообщения о передаче митохондрий относятся к экспериментам, где одним из партнеров является стволовая или прогениторная клетка. С другой стороны, в экспериментах *in vitro* сокультивируемые клетки, тем более перевиваемые, могут

принадлежать к разным видам животных, что может обеспечивать сохранение донорских митохондрий, как при межвидовом оплодотворении.

В частности, в экспериментах, проведенных нами с мезенхимальными стволовыми клетками, сокультивированными с кардиомиоцитами [17] или эпителием почки [18], имела место именно межвидовая передача митохондрий. Мы использовали ММСК человека и для их фенотипического выявления в совместных культурах применяли антитела к ядрам человеческих клеток (Human Nuclei, «Millipore», США), а кардиомиоциты и почечные клетки получали из крысы.

Возможности терапевтического использования обмена митохондриями. Явление передачи митохондрий из одних клеток в другие открывает новые возможности для лечения различных патологий. Известно, что многие заболевания, в т.ч. весьма тяжелые, сопряжены с повреждением митохондрий и нарушением их функций. В нашем недавнем обзоре [52] мы подробно рассматриваем спектр этих патологий, здесь же лишь отметим, что причиной проявления патологических симптомов могут быть не только генетические нарушения функций митохондрий, но и их повреждение внешним воздействием. Восстановление функций митохондрий в этих случаях становится одной из первоочередных задач терапевтического воздействия, поэтому сейчас активно разрабатываются фармакологические средства, целенаправленно действующие на митохондрии [53, 54]. Однако замена нефункционирующих митохондрий в клетках поврежденной ткани за счет транспорта функциональных митохондрий из донорских клеток может стать абсолютно новым подходом к терапии митохондриально-ассоциированных болезней.

Снова отмечаем, что большинство описанных случаев передачи митохондрий между соматическими клетками касается использования стволовых или прогениторных клеток. Это открывает новую страницу в истории изучения механизмов реализации терапевтических эффектов этих клеток и, с другой стороны, делает их наиболее вероятным кандидатом в разработке подходов терапевтической трансплантации митохондрий. Известные свойства стволовых клеток, такие как хоуминг, направленная миграция в поврежденную ткань или очаг воспаления, делают их практически готовым средством доставки здоровых митохондрий в органы-мишени.

В случае генетически-зависимой дисфункции митохондрий задача представляется более сложной, поскольку замены требуют митохондрии практически всех клеток организма. Однако, поскольку наиболее тяжелые последствия

этих заболеваний связаны с несколькими органами, прежде всего с мозгом и сердцем, терапевтическая трансплантация митохондрий может стать важным элементом если не лечения, то хотя бы снижения патологической симптоматики болезни.

Подходом к пренатальному предупреждению генетических митохондриальных болезней может быть замена митохондриальной популяции на ранних стадиях эмбриогенеза как компонент вспомогательных репродуктивных технологий. И если попытки механической замены митохондрий [55] не принесут должного результата, то следует обратить внимание на биологические способы транспорта митохондрий. Например, исходя из данных о передаче митохондрий в совместной культуре, можно ожидать эффекта при сокультивировании стволовых клеток и зиготы или бластоцисты на ранних стадиях деления. А самое главное, есть вероятность избежать при этом элиминации донорских митохондрий, что является, как описано выше, основной проблемой при попытках обойти материнское наследование митохондрий.

Наконец, в свете последних данных о способах повышения терапевтической эффективности ММСК за счет воздействия на систему транспорта митохондрий [21], можно думать о возможности фармакологического усиления межклеточной передачи митохондрий. В случае реализации этой возможности нефункциональные митохондрии поврежденной ткани могут быть заменены за счет донирования митохондрий из соседних здоровых клеток. Таким образом возможно корректировать приобретенные митохондриальные патологии, например, инсульт или инфаркт, когда гибнущие клетки соседствуют с неповрежденными, содержащими функциональные митохондрии.

Очевидно, что межклеточный транспорт митохондрий является важной составляющей взаимодействия клеток, особенно в условиях стресса. Для определения возможности использовать этот феномен в клинике требуются дальнейшие исследования как механизмов транспорта, факторов, активирующих или подавляющих его, так и детальное описание всего спектра последствий передачи митохондрий для клеток-доноров и реципиентов.

Авторы поздравляют В.П. Скулачева с юбилеем и желают долгих лет плодотворной деятельности на ниве отечественной и мировой науки.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-15-00107).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Weiss, P.A., and Mayr, R. (1971) Neuronal organelles in neuroplastic («axonal») flow. I. Mitochondria, *Acta Neuropathol.*, **5**, Suppl. 5, 187–197.
2. Зоров Д.Б., Исаев Н.К., Плотников Е.Ю., Зорова Л.Д., Стельмашук Е.В., Васильева А.К., Архангельская А.А., Хряпенкова Т.Г. (2007) Митохондрия как многоликий Янус, *Биохимия*, **72**, 1371–1384.
3. Amchenkova, A.A., Bakeeva, L.E., Chentsov, Y.S., Skulachev, V.P., and Zorov, D.B. (1988) Coupling membranes as energy-transmitting cables. I. Filamentous mitochondria in fibroblasts and mitochondrial clusters in cardiomyocytes, *J. Cell Biol.*, **107**, 481–495.
4. Leterrier, J.F., Rusakov, D.A., Nelson, B.D., and Linden, M. (1994) Interactions between brain mitochondria and cytoskeleton: evidence for specialized outer membrane domains involved in the association of cytoskeleton-associated proteins to mitochondria *in situ* and *in vitro*, *Microsc. Res. Tech.*, **27**, 233–261.
5. Chang, D.T., and Reynolds, I.J. (2006) Mitochondrial trafficking and morphology in healthy and injured neurons, *Prog. Neurobiol.*, **80**, 241–268.
6. Baloyannis, S.J. (2006) Mitochondrial alterations in Alzheimer's disease, *J. Alzheimers Dis.*, **9**, 119–126.
7. Rogers, R.S., and Bhattacharya, J. (2013) When cells become organelle donors, *Physiology (Bethesda)*, **28**, 414–422.
8. Gerdes, H.H., Bukoreshtliev, N.V., and Barroso, J.F. (2007) Tunneling nanotubes: a new route for the exchange of components between animal cells, *FEBS Lett.*, **581**, 2194–2201.
9. Rustom, A., Saffrich, R., Markovic, I., Walther, P., and Gerdes, H.H. (2004) Nanotubular highways for intercellular organelle transport, *Science*, **303**, 1007–1010.
10. Bukoreshtliev, N.V., Wang, X., Hodneland, E., Gurke, S., Barroso, J.F., and Gerdes, H.H. (2009) Selective block of tunneling nanotube (TNT) formation inhibits intercellular organelle transfer between PC12 cells, *FEBS Lett.*, **583**, 1481–1488.
11. Gurke, S., Barroso, J.F., Hodneland, E., Bukoreshtliev, N.V., Schlicker, O., and Gerdes, H.H. (2008) Tunneling nanotube (TNT)-like structures facilitate a constitutive, actomyosin-dependent exchange of endocytic organelles between normal rat kidney cells, *Exp. Cell Res.*, **314**, 3669–3683.
12. Onfelt, B., Nedvetzki, S., Yanagi, K., and Davis, D.M. (2004) Cutting edge: Membrane nanotubes connect immune cells, *J. Immunol.*, **173**, 1511–1513.
13. Schiller, C., Huber, J.E., Diakopoulos, K.N., and Weiss, E.H. (2013) Tunneling nanotubes enable intercellular transfer of MHC class I molecules, *Hum. Immunol.*, **74**, 412–416.
14. Galkina, S.I., Molotkovsky, J.G., Ullrich, V., and Sud'ina, G.F. (2005) Scanning electron microscopy study of neutrophil membrane tubulovesicular extensions (cytonemes) and their role in anchoring, aggregation and phagocytosis. The effect of nitric oxide, *Exp. Cell Res.*, **304**, 620–629.
15. Freund, D., Bauer, N., Boxberger, S., Feldmann, S., Streller, U., Ehninger, G., Werner, C., Bornhauser, M., Oswald, J., and Corbeil, D. (2006) Polarization of human hematopoietic progenitors during contact with multipotent mesenchymal stromal cells: effects on proliferation and clonogenicity, *Stem Cells Dev.*, **15**, 815–829.
16. Koyanagi, M., Brandes, R.P., Haendeler, J., Zeiher, A.M., and Dimmeler, S. (2005) Cell-to-cell connection of endothelial progenitor cells with cardiac myocytes by nanotubes: a novel mechanism for cell fate changes, *Circ. Res.*, **96**, 1039–1041.
17. Plotnikov, E.Y., Khryapenkova, T.G., Vasileva, A.K., Marey, M.V., Galkina, S.I., Isaev, N.K., Sheval, E.V., Polyakov, V.Y., Sukhikh, G.T., and Zorov, D.B. (2008) Cell-to-cell cross-talk between mesenchymal stem cells and cardiomyocytes in co-culture, *J. Cell Mol. Med.*, **12**, 1622–1631.
18. Plotnikov, E.Y., Khryapenkova, T.G., Galkina, S.I., Sukhikh, G.T., and Zorov, D.B. (2010) Cytoplasm and organelle transfer between mesenchymal multipotent stromal cells and renal tubular cells in co-culture, *Exp. Cell Res.*, **316**, 2447–2455.
19. Marzo, L., Gousset, K., and Zurzolo, C. (2012) Multifaceted roles of tunneling nanotubes in intercellular communication, *Front. Physiol.*, **72**, 1–14.
20. Arkwright, P.D., Luchetti, F., Tour, J., Roberts, C., Ayub, R., Morales, A.P., Rodriguez, J.J., Gilmore, A., Canonico, B., Papa, S., and Esposti, M.D. (2010) Fas stimulation of T lymphocytes promotes rapid intercellular exchange of death signals via membrane nanotubes, *Cell Res.*, **20**, 72–88.
21. Ahmad, T., Mukherjee, S., Pattnaik, B., Kumar, M., Singh, S., Kumar, M., Rehman, R., Tiwari, B.K., Jha, K.A., Barhanpurkar, A.P., Wani, M.R., Roy, S.S., Mabalirajan, U., Ghosh, B., and Agrawal, A. (2014) Mirol regulates intercellular mitochondrial transport & enhances mesenchymal stem cell rescue efficacy, *EMBO J.*, **33**, 994–1010.
22. Lou, E., Fujisawa, S., Morozov, A., Barlas, A., Romin, Y., Dogan, Y., Gholami, S., Moreira, A.L., Manova-Todorova, K., and Moore, M.A. (2012) Tunneling nanotubes provide a unique conduit for intercellular transfer of cellular contents in human malignant pleural mesothelioma, *PLoS One*, **7**, e33093.
23. Kadiu, I., and Gendelman, H.E. (2011) Macrophage bridging conduit trafficking of HIV-1 through the endoplasmic reticulum and Golgi network, *J. Proteome Res.*, **10**, 3225–3238.
24. Domhan, S., Ma, L., Tai, A., Anaya, Z., Beheshti, A., Zeier, M., Hlatky, L., and Abdollahi, A. (2011) Intercellular communication by exchange of cytoplasmic material via tunneling nano-tube like structures in primary human renal epithelial cells, *PLoS One*, **6**, e21283.
25. Wang, Y., Cui, J., Sun, X., and Zhang, Y. (2011) Tunneling-nanotube development in astrocytes depends on p53 activation, *Cell Death Differ.*, **18**, 732–742.
26. He, K., Shi, X., Zhang, X., Dang, S., Ma, X., Liu, F., Xu, M., Lv, Z., Han, D., Fang, X., and Zhang, Y. (2011) Long-distance intercellular connectivity between cardiomyocytes and cardiofibroblasts mediated by membrane nanotubes, *Cardiovasc. Res.*, **92**, 39–47.
27. Lou, E., Fujisawa, S., Barlas, A., Romin, Y., Manova-Todorova, K., Moore, M.A., and Subramanian, S. (2012) Tunneling nanotubes: a new paradigm for studying intercellular communication and therapeutics in cancer, *Commun. Integr. Biol.*, **5**, 399–403.
28. Chinnery, H.R., Pearlman, E., and McMenamin, P.G. (2008) Cutting edge: membrane nanotubes *in vivo*: a feature of MHC class II+ cells in the mouse cornea, *J. Immunol.*, **180**, 5779–5783.
29. Islam, M.N., Das, S.R., Emin, M.T., Wei, M., Sun, L., Westphalen, K., Rowlands, D.J., Quadri, S.K., Bhattacharya, S., and Bhattacharya, J. (2012) Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury, *Nature Med.*, **18**, 759–765.
30. Wu, X.S., Masedunskas, A., Weigert, R., Copeland, N.G., Jenkins, N.A., and Hammer, J.A. (2012) Melanoregulin

- regulates a shedding mechanism that drives melanosome transfer from melanocytes to keratinocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 2101–2109.
31. Bisharyan, Y., and Clark, T.G. (2011) Calcium-dependent mitochondrial extrusion in ciliated protozoa, *Mitochondrion*, **11**, 909–918.
 32. Simpson, C.F., and Kling, J.M. (1968) The mechanism of mitochondrial extrusion from phenylhydrazine-induced reticulocytes in the circulating blood, *J. Cell Biol.*, **36**, 103–109.
 33. Nakajima, A., Kurihara, H., Yagita, H., Okumura, K., and Nakano, H. (2008) Mitochondrial extrusion through the cytoplasmic vacuoles during cell death, *J. Biol. Chem.*, **283**, 24128–24135.
 34. Lyamzaev, K.G., Nepryakhina, O.K., Saprunova, V.B., Bakeeva, L.E., Pletjushkina, O.Y., Chernyak, B.V., and Skulachev, V.P. (2008) Novel mechanism of elimination of malfunctioning mitochondria (mitoptosis): formation of mitoptotic bodies and extrusion of mitochondrial material from the cell, *Biochim. Biophys. Acta*, **1777**, 817–825.
 35. Spees, J.L., Olson, S.D., Whitney, M.J., and Prockop, D.J. (2006) Mitochondrial transfer between cells can rescue aerobic respiration, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 1283–1288.
 36. Yasuda, K., Park, H.C., Ratliff, B., Addabbo, F., Hatzopoulos, A.K., Chander, P., and Goligorsky, M.S. (2010) Adriamycin nephropathy: a failure of endothelial progenitor cell-induced repair, *Am. J. Pathol.*, **176**, 1685–1695.
 37. Cho, Y.M., Kim, J.H., Kim, M., Park, S.J., Koh, S.H., Ahn, H.S., Kang, G.H., Lee, J.B., Park, K.S., and Lee, H.K. (2012) Mesenchymal stem cells transfer mitochondria to the cells with virtually no mitochondrial function but not with pathogenic mtDNA mutations, *PLoS One*, **7**, e32778.
 38. Li, X., Zhang, Y., Yeung, S.C., Liang, Y., Liang, X., Ding, Y., Ip, M.S., Tse, H.F., Mak, J.C., and Lian, Q. (2014) Mitochondrial transfer of induced pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells to airway epithelial cells attenuates cigarette smoke-induced damage, *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.*, **51**, 455–465.
 39. Otsu, K., Das, S., Houser, S.D., Quadri, S.K., Bhattacharya, S., and Bhattacharya, J. (2009) Concentration-dependent inhibition of angiogenesis by mesenchymal stem cells, *Blood*, **113**, 4197–4205.
 40. Vallabhaneni, K.C., Haller, H., and Dumler, I. (2012) Vascular smooth muscle cells initiate proliferation of mesenchymal stem cells by mitochondrial transfer via tunneling nanotubes, *Stem Cells Dev.*, **21**, 3104–3113.
 41. Acquistapace, A., Bru, T., Lesault, P.F., Figeac, F., Coudert, A.E., le Coz, O., Christov, C., Baudin, X., Auber, F., Yiou, R., Dubois-Randé, J.L., and Rodriguez, A.M. (2011) Human mesenchymal stem cells reprogram adult cardiomyocytes toward a progenitor-like state through partial cell fusion and mitochondria transfer, *Stem Cells*, **29**, 812–824.
 42. Mishra, P., and Chan, D.C. (2014) Mitochondrial dynamics and inheritance during cell division, development and disease, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, **15**, 634–646.
 43. Fontaine, K.M., Cooley, J.R., and Simon, C. (2007) Evidence for paternal leakage in hybrid periodical cicadas (Hemiptera: *Magicada* spp.), *PLoS One*, **2**, e892.
 44. Dokianakis, E., and Ladoukakis, E.D. (2014) Different degree of paternal mtDNA leakage between male and female progeny in interspecific *Drosophila crosses*, *Ecol. Evol.*, **4**, 2633–2641.
 45. Song, W.H., Ballard, J.W., Yi, Y.J., and Sutovsky, P. (2014) Regulation of mitochondrial genome inheritance by autophagy and ubiquitin-proteasome system: implications for health, fitness, and fertility, *Biomed. Res. Int.*, **2014**, 981867. DOI: 10.1155/2014/981867.
 46. Sutovsky, P., Moreno, R.D., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Simerly, C., and Schatten, G. (1999) Ubiquitin tag for sperm mitochondria, *Nature*, **402**, 371–372.
 47. Sutovsky, P., Moreno, R.D., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Simerly, C., and Schatten, G. (2000) Ubiquitinated sperm mitochondria, selective proteolysis, and the regulation of mitochondrial inheritance in mammalian embryos, *Biol. Reprod.*, **63**, 582–590.
 48. Sutovsky, P., Moreno, R., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Thompson, W.E., and Schatten, G. (2001) A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis, *J. Cell Sci.*, **114**, 1665–1675.
 49. Sutovsky, P., Navara, C.S., and Schatten, G. (1996) Fate of the sperm mitochondria, and the incorporation, conversion, and disassembly of the sperm tail structures during bovine fertilization, *Biol. Reprod.*, **55**, 1195–1205.
 50. Sutovsky, P., McCauley, T.C., Sutovsky, M., and Day, B.N. (2003) Early degradation of paternal mitochondria in domestic pig (*Sus scrofa*) is prevented by selective proteasomal inhibitors lactacystin and MG132, *Biol. Reprod.*, **68**, 1793–1800.
 51. Shitara, H., Kaneda, H., Sato, A., Inoue, K., Ogura, A., Yonekawa, H., and Hayashi, J.I. (2000) Selective and continuous elimination of mitochondria microinjected into mouse eggs from spermatids, but not from liver cells, occurs throughout embryogenesis, *Genetics*, **156**, 1277–1284.
 52. Зоров Д.Б., Исаев Н.К., Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Зорова Л.Д., Певзнер И.Б., Моросанова М.А., Янкаускас С.С., Зоров С.Д., Бабенко В.А. (2013) Перспективы митохондриальной медицины, *Биохимия*, **78**, 1251–1264.
 53. Skulachev, M.V., Antonenko, Y.N., Anisimov, V.N., Chernyak, B.V., Cherepanov, D.A., Chistyakov, V.A., Egorov, M.V., Kolosova, N.G., Korshunova, G.A., Lyamzaev, K.G., Plotnikov, E.Y., Roginsky, V.A., Savchenko, A.Y., Severina, I.I., Severin, F.F., Shkurat, T.P., Tashlitsky, V.N., Shidlovsky, K.M., Vyssokikh, M.Y., Zamyatnin, A.A., Jr., Zorov, D.B., and Skulachev, V.P. (2011) Mitochondrial-targeted plastoquinone derivatives. Effect on senescence and acute age-related pathologies, *Curr. Drug Targets*, **12**, 800–826.
 54. Smith, R.A., and Murphy, M.P. (2011) Mitochondria-targeted antioxidants as therapies. *Discov. Med.*, **11**, 106–114.
 55. Takeda, K., Tasai, M., Akagi, S., Matsukawa, K., Takahashi, S., Iwamoto, M., Srirattana, K., Onishi, A., Tagami, T., Nirasawa, K., Hanada, H., and Pinkert, C.A. (2010) Microinjection of serum-starved mitochondria derived from somatic cells affects parthenogenetic development of bovine and murine oocytes, *Mitochondrion*, **10**, 137–142.

INTERCELLULAR TRANSFER OF MITOCHONDRIA

**E. Y. Plotnikov^{1*}, V. A. Babenko², D. N. Silachev¹,
L. D. Zorova³, T. G. Khryapenkova¹, E. S. Savchenko⁴,
I. B. Pevzner^{1,2}, D. B. Zorov¹**

¹ *M. V. Lomonosov Moscow State University, A. N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow 119991, Russia; fax: +7(495)939-0338, E-mail: plotnikov@genebee.msu.ru*

² *M. V. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow 119991, Russia*

³ *M. V. Lomonosov Moscow State University, International Laser Center, Moscow 119991, Russia*

⁴ *M. V. Lomonosov Moscow State University, Biological Faculty, Moscow 119991, Russia*

Received December 2, 2014

Recently described phenomenon of intercellular transport of mitochondria attracts the attention of researchers from both basic and clinical science. As a result of mitochondria transfer, a switch in the mode of stem cell differentiation, reprogramming of differentiated cells, and recovery of lost mitochondrial function in recipient cells has been described. On the other hand, mechanisms of mitochondrial transport between cells and the conditions inducing this phenomenon have not been fully studied. It remains an open question whether it is possible to observe this phenomenon *in vivo*. In addition, it is still unclear how the transport of mitochondria in somatic cells is involved in the system of ubiquitination, which, for example, in the fertilized egg eliminates «alien» sperm mitochondria. The study of these processes can provide a powerful incentive for the development of treatment for mitochondria-associated pathologies and open a new therapeutic intervention based on «mitochondrial transplantation».

Key words: mitochondria, stem cells, axonal transport, tunneling nanotubes, differentiation