

***In vitro* modelis mitohondriju funkcionalitātes novērtēšanai kardiovaskulāro un neirodeģeneratīvo slimību patoģenēzes pētījumiem un zāļu vielu skrīningam**

**Marina Makrečka-Kūka^{1,2}, Kristīne Voļska², Edijs Vāvers^{1,2},
Reinis Vilšķērsts^{1,2}, Dace Bandere¹, Maija Dambrova^{1,2}**

¹ Rīgas Stradiņa universitāte,
Farmācijas fakultāte, Latvija

² Latvijas Organiskās sintēzes institūts,
Farmaceitiskās farmakoloģijas laboratorija

Ievads. Mitohondriji nodrošina šūnu enerģijas metabolismu, un to disfunkcija tiek saistīta ar kardiovaskulāro un neirodeģeneratīvo slimību attīstību. Tā kā mitohondriji varētu kalpot kā iespējamie zāļu mērķi dažādu patoloģiju un hronisku slimību ārstēšanai, aktuāli ir pētījumi, kas pamatotu jaunu terapiju iespējas, izmantojot uz mitohondrijiem mērķētas zāļu vielas.

Darba mērķis. Izstrādāt *in vitro* modeli mitohondriju funkcionalitātes novērtēšanai, kuru varētu izmantot kardiovaskulāro un neirodeģeneratīvo slimību patoģenēzes pētījumiem, kā arī lai izvērtētu iespējamo zāļvielu uz mitohondrijiem mērķēto aktivitāti.

Materiāls un metodes. Eksperimentiem tika izmantoti smadzeņu un sirds audi no *Wistar* līnijas žurku tēviņiem. Eksperimentos izmantoja izolētus mitohondrijus, kā arī ar saponīnu permeabilizētus audus. Lai noteiktu išēmiskā stresa ietekmi uz mitohondriālo elektronu transporta ķēdi, izolēti mitohondriji tika pakļauti hipoksiskiem apstākļiem (2 un 5 min), kam sekoja 5 min reoksigenācija. Lai noteiktu oksidatīvā stresa ietekmi uz mitohondriju funkcionalitāti, permeabilizēti smadzeņu audi tika inkubēti ar 500 μM H₂O₂.

Lai novērtētu mitohondriju funkcionalitāti, veicām mitohondriju elpošanas (skābekļa patēriņa) mērījumus ar *Clark* tipa elektrodu. Izmantojot dažādus substrātus un specifiskus inhibitorus, mērījām no elektronu transporta ķēdes kompleksiem atkarīgo oksidatīvo fosforilēšanas ātrumu un oksidatīvas fosforilēšanas efektivitāti (sajūgšanas-atjūgšanas procesi). *In vitro* stresa modeļos iegūtie rezultāti tika salīdzināti ar līdzīgiem *ex vivo* un *in vivo* stresa eksperimentālo modeļu datiem. Izstrādātajos modeļos tika pārbaudīta zāļvielu ietekme uz mitohondriju funkcionalitāti.

Rezultāti. Išēmiskais stress (*in vitro*) statistiski ticami divas reizes samazināja no kompleksa I atkarīgo oksidatīvo fosforilēšanu no sirds audiem izolētos mitohondrijos. Līdzīgi kā *in vitro*, arī permeabilizētos sirds audos, kuri tika pakļauti išēmijai-reperfūzijai *ex vivo* un *in vivo*, no kompleksa I atkarīgā oksidatīvā fosforilēšana statistiski ticami samazinājās attiecīgi 2,8 un 1,6 reizes. Turklāt išēmiskais stress (*in vitro* un *ex vivo*) samazināja oksidatīvās fosforilēšanas efektivitāti.

Smadzeņu audos gan išēmiskais, gan oksidatīvais stress statistiski ticami samazināja oksidatīvo fosforilēšanu 2,5 reizes. Antiišēmiskā preparāta mildronāta lietošana (14 dienas devā 100 mg/kg *per os*) pasargāja smadzeņu audu mitohondrijus no išēmiskā stresa *in vitro*.

Secinājumi. Izstrādātos modeļus mitohondriju funkcionalitātes novērtēšanai var izmantot kardiovaskulāro un neirodeģeneratīvo slimību patoģenēzes pētījumiem, kā arī lai izvērtētu iespējamo zāļvielu uz mitohondrijiem mērķēto aktivitāti.