

## **БІОЛОГІЧНІ НАУКИ**

**Мархайчук В.Ю.**

*студент,*

*ННЦ «Інститут біології та медицини»*

**Дерев'янчук М.В.**

*кандидат біологічних наук;*

**Кравець В.С.**

*доктор біологічних наук,*

*Інститут біоорганічної хімії та нафтохімії імені В.П. Кухаря*

*Національної академії наук України*

### **РОЛЬ ТЕТРАМЕТИЛПІПЕРИДИНІВ TEMPO ТА TEMPOL У РЕГУЛЯЦІЇ КЛІТИННОГО ДИХАННЯ РОСЛИН ЗА ДІЇ БІОТИЧНОГО СТРЕСУ**

Тетраметилпіперидин-*N*-оксид або 2,2,6,6-тетраметилпіперидин-1-оксид (TEMPO) та його похідне 4-гідрокси-TEMPO (TEMPOL) – водорозчинні мембранопроникні синтетичні міметики супероксид дисмутази.

Попри функцію антиоксидантів, TEMPOL також є відомим індуктором генів аквапоринів та вазопресину, в умовах пригнічення клітин цисплатином, що знижує пошкоджуючий ефект цисплатину на нирки мишей [1]. Дослідження із TEMPO вказують на їх важливу роль у підвищенні активності ферментних антиоксидантних систем – супероксиддисмутази (СОД) і каталази, зниженні рівня NO радикалів, підвищення експресії мітохондріального гену Bcl-2 і цитоплазматичного Вах, та зниження активності асоційованих з розвитком апоптозу мітохондріальних генів Вах, цитохрому с, каспаз 3 і 9 у відповідь на умови анексії у щурів [2]. Усі ці ефекти були спрямовані на зниження ризику розвитку мітохондріальної дисфункції і обумовлену анексією нейродегенеративної дисфункції внаслідок апоптозу клітин [2]. В інших дослідницьких роботах вказується на відновленні дією TEMPOL функціональності мітохондрій лінії HT22 клітин мозку у ряді стрес-індукуючих умов, зокрема в умовах оксидативного стресу,

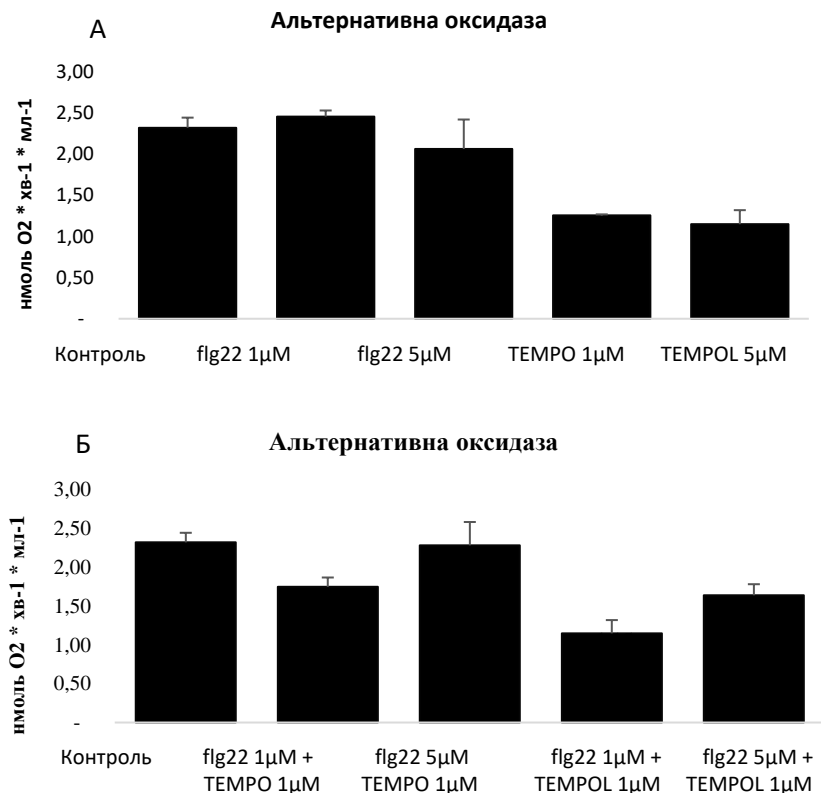
модульованого прооксидантом бутіоніном сульфоксиміном. В оброблених бутіоніном сульфоксиміном клітин TEMPOL підвищував рівень синтезу АТФ, інтенсивність дихальних процесів та сприяв нормалізації мембранного потенціалу мітохондрій [3].

У роботі ми проаналізували вплив сполуки TEMPO та його гідроксильного похідного – TEMPOL на регуляцію транспорту електронів у дихальному ланцюзі рослин при розпізнаванні елісотору flg22, що мало на меті визначити їх потенційну роль у стабілізації енергогенеруючих процесів клітин рослин при біотичному стресі та індукованому розвитку оксидативного стресу.

Було визначено, що пептид flg22 не індукував значних змін у активності транспорту електронів по альтернативному шляху (рис. 1А). На противагу, TEMPO і TEMPOL майже вдвічі знижували активність альтернативного шляху дихання (рис. 1А). При одночасному введенні flg22 та TEMPO чи TEMPOLу було відмічено також значне зниження активності альтернативного шляху транспорту електронів (рис. 1Б). Однак, збільшення концентрації flg22 до 5  $\mu\text{M}$  при одночасній інкубації із TEMPO чи TEMPOL призводило до значного відновлення активності альтернативного шляху (у випадку TEMPO спостерігалось відновлення активності альтернативного шляху транспорту електронів до рівня контрольних рослин) (рис. 1Б). Це свідчить, про те що пептид flg22 індукує процеси інтенсифікації транспорту електронів по альтернативному шляху дихального ланцюга, імовірно шляхом індукції процесів генерації АФК. Поясненням впливу TEMPO чи TEMPOLу на інтенсивність загального дихання ми вважаємо їх участь у процесах формування потоку електронів у електрон-транспортному ланцюзі (ЕТЛ). У процесі роботи ЕТЛ як супутні продукти утворюються АФК, що знешкоджуються антиоксидантними системам та альтернативними оксидазами, які здатні виводити електрони із ЕТЛ по альтернативному шляху. Тетраметилпiperидини можуть функціонувати у цих процесах як антиоксиданти, знижуючи рівень АФК у мітохондріях та запобігаючи роз'єднанню компонентів дихального ланцюга, що у сукупності призводить до більш стабільного потоку електронів по основному цитохромному ланцюзі і вищій інтенсивності дихання і генерації енергії. З іншої сторони, виконуючи функцію регуляторів рівня АФК, TEMPO і TEMPOL можуть впливати на активність альтернативного шляху дихання, який у рослин, поряд з іншими антиоксидантами, виконує функцію контролю рівня АФК. Активність альтернативних оксидаз

значною мірою регулюється рівнем АФК, тому можливим заміщенням функцій альтернативних оксидаз антиоксидантами TEMPO чи TEMPOL можна пояснити різке зниження активності альтернативного шляху дихання рослин. При цьому, додавання в середовище молекулярних маркерів патогенів – пептиду flg22 індукувало зростання активності альтернативного шляху дихання навіть за присутності тетраметилпіперидинів, що може свідчити про існування інших механізмів індукції альтернативного шляху транспорту електронів у дихальному ланцюзі за цих умов, або швидке виснаження антиоксидантних властивостей TEMPO чи TEMPOLу при надмірній продукції АФК клітиною як частини відповіді на сприйняття сигналу пептиду flg22.

В цілому, розпізнавання різноманітних еліситорів та патогенних клітин є ключовою умовою для швидкої перебудови метаболізму клітини та формування захисних реакцій для протидії біотичному стресу та стабілізації компонентів клітини. Оскільки, одними з перших реакцій на формування захисної відповіді є ініціація сигнальних каскадів за участі АФК для клітини є критично важливим забезпечувати відповідний фізіологічний рівень АФК для забезпечення їх сигнальної функції. В той же час надмірні рівні АФК токсичними і при відсутності належно організованих систем протидії можуть призвести до розвитку оксидативного стресу, порушення дихальних процесів та роз'єднання метаболічних потоків в цілому і швидкій загибелі клітини. У даній роботі ми визначили, що міметики супероксид дисмутази – тетраметилпіперидини TEMPO і TEMPOL виявляють значний вплив на регуляцію процесів транспорту електронів у дихальному ланцюзі і таким чином можуть адаптувати відповідь клітини до дії біотичного стресу.



**Рис. 1. А.** Вплив пептиду flg22 ( $1 \times 10^{-6}$  М,  $5 \times 10^{-6}$  М), TEMPO ( $1 \times 10^{-6}$  М) і TEMPOL ( $1 \times 10^{-6}$  М) на процеси альтернативного шляху транспорту електронів у 10-денних проростків рослин *A. thaliana* за оптимальних умов.  
**Б.** Вплив TEMPO ( $10^{-6}$  М) і TEMPOL (Темпо-ОН) ( $10^{-6}$  М) на індуковані пептидом flg22 ( $1 \times 10^{-6}$  М,  $5 \times 10^{-6}$  М) процеси альтернативного шляху транспорту електронів за тих самих умов

Джерело: розроблено авторами

### **Список використаних джерел:**

1. Afjal, M.A., et al. Tempol (4-hydroxy tempo) protects mice from cisplatin-induced acute kidney injury via modulation of expression of aquaporins and kidney injury molecule-1. *Drug and Chemical Toxicology*, 1–9. DOI: 10.1080/01480545.2020.1831011
2. Salvi, A., Patki, G., Khan, E., Asghar, M., & Salim, S. (2016). Protective Effect of Tempol on Buthionine Sulfoximine-Induced Mitochondrial Impairment in Hippocampal Derived HT22 Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 5059043. DOI: 10.1155/2016/5059043
3. Samaiya, P. K., Narayan, G., Kumar, A., & Krishnamurthy, S. (2017). Tempol (4 hydroxy-tempo) inhibits anoxia-induced progression of mitochondrial dysfunction and associated neurobehavioral impairment in neonatal rats. *Journal of the Neurological Sciences*, 375, 58–67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2017.01.021>