

Štúdium endogénnej fluorescence mitochondrií pomocou fluorescenčných techník

Miroslava Štefanišinová, Vladimíra Tomečková, Mária Mareková

Ústav Lekárskej chémie a biochémie a Labmed a.s., LF UPJŠ, Trieda SNP.1, Košice
stefanisino@gmail.com

Základom využitia fluorescenčných javov na sledovanie životných funkcií mitochondrií je vonkajšia mitochondriálna membrána, ktorá ako prvá prichádza do kontaktu s vonkajšími fyzikálnymi a chemickými vplyvmi. Nevyhnutnou podmienkou na využitie fluorescence pri štúdiu mitochondrií je prítomnosť fluorofóru na vhodnom mieste. Po ožiarení fluorofórov (tyrozínu, tryptofánu, fenylalanínu a koenzýmov) vonkajšej mitochondriálnej membrány, ktoré emitujú sekundárne emisné žiarenie, primárnym UV žiarením, dochádza k sekundárnej emisii žiarenia mitochondriami – autofluorescencii [1].

Za účelom lepšieho pochopenia dynamiky životných funkcií mitochondrií sme uskutočnili porovnanie endogénnej fluorescence kontrolných a experimentálnych vzoriek mitochondrií izolovaných z pečene potkana, u ktorého sa uskutočnila (1hod) ischémia a následná (1hod) reperfúzia tenkého čreva pomocou excitačno – emisnej matrice, synchronného fluorescenčného fingerprintu a jednoduchého synchronného a emisného fluorescenčného spektra.

Na základe našich výsledkov, určených excitačných a emisných maxím, pozorovaného batochrómneho posunu a poklesu fluorescence sme zistili, že sledujeme spoločné zmeny endogénnej fluorescence zmesi fluorofórov tryptofánu, tyrozínu a fenylalanínu. Tieto aromatické aminokyseliny slúžia ako endogénne fluorescenčné markery proteínov vo vonkajšej mitochondriálnej membráne a ako perspektívne diagnostické markery ischemického poškodenia. Pokles intenzity fluorescence v našich experimentálnych vzorkách je spôsobený pravdepodobne znížením množstva proteínov v mitochondriách pečene počas ischémie tenkého čreva a hodinovej reperfúzie. Pokles proteínov počas ischémie a reperfúzie bol pozorovaný aj pri iných typoch ischémie napr. pri ischemickom poškodení svalu [2].

Mitochondrie z hľadiska fluorimetrie predstavujú komplexný, vysoko organizovaný multifluorescenčný systém [3]. Hlavným cieľom predloženej práce bolo s využitím viacerých fluorescenčných techník poskytnúť širší pohľad na funkciu mitochondrií. Naše pozorovania a výsledky ukázali, že ischémia znížila autofluorescenciu endogénnych fluorofórov na vonkajšej mitochondriálnej membráne, najväčšie zníženie fluorescence a zmena tvaru spektra boli pozorované u vzoriek poškodeného tenkého čreva po hodinovej ischémii a reperfúzii. Vytvorenie databázy rôznych jednoduchých a trojdimenzionálnych SFF spektier fluorofórov mitochondrií s rôznymi typmi ischemických poškodení vyhodnotenú štatistickou analýzou bude predmetom nasledujúceho štúdia.

[1] Lakowicz J.R.: Principles of fluorescence spectroscopy, *Springer 3rd edition, 2006*.

[2] Lakyová L., Toporcer T., Tomečková, V., Sabo J., Radoňák J., *Lasers in Surgery and Medicine, 2010, 42, 665-672*.

[3] Chorvát D.J., Bassien-Capsa V., Cagalinec M., Kirchnerova J., Mateasik A., Comte B., Chorvátová A.: *Laser Physics, 2004, 14, 220-230*.