

© Коллектив авторов, 2017  
УДК 575.133

Синёв В.В.<sup>1</sup>, Сазонова М.А.<sup>1,2</sup>, Карагодин В.П.<sup>2</sup>, Рыжкова А.И.<sup>2,4</sup>, Галицына Е.В.<sup>2,5</sup>,  
Мельниченко А.А.<sup>2,5</sup>, Демакова Н.А.<sup>5</sup>, Шкурат Т.П.<sup>5</sup>, Собенин И.А.<sup>1,2</sup>, Орехов А.Н.<sup>2,3</sup>

## Изучение митохондриальной дисфункции с помощью цитоплазматических гибридов

<sup>1</sup> ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава России, 121500, г. Москва, Россия, Черепковская 3-я ул., д. 15-а

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, г. Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8

<sup>3</sup> Научно-исследовательский институт атеросклероза Инновационный центр Сколково, 121609, Московская обл., Россия, Сколково, ул. Новая, д. 100

<sup>4</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина», 109472, г. Москва, Россия, ул. Академика Скрябина, д. 23

<sup>5</sup> Южный федеральный университет, 344006, г. Ростов-на-Дону, Россия, ул. Большая Садовая, д. 105/42

**Цель.** В обзоре рассмотрены источники литературы, посвященные изучению митохондриальной дисфункции с помощью цитоплазматических гибридов (цибридов). Представленные исследования проводились на гибридных культурах клеточных линий HL60, MOL T-4, A549, 143B, HeLa, Aре-19, HEK-293, SH-SY5Y и NT2. Согласно анализу научной мировой литературы, одними из наиболее перспективных моделей для изучения дисфункции митохондрий являются безмитохондриальные (rho0) культуры клеток и цитоплазматические гибриды, содержащие одну или несколько мутаций митохондриального генома. В обзоре рассмотрены работы по изучению биохимических и молекулярно-клеточных патологических процессов в гибридных клетках при различных заболеваниях человека, таких, как болезнь Альцгеймера и умеренные когнитивные нарушения, синдромы MERRF и MELAS, атрофия зрительного нерва Лебера и болезнь Паркинсона. Отдельно представлен материал, посвященный гибридам, как потенциальным моделям для исследования возможностей терапии. **Заключение.** Проанализированные в обзоре rho0-клеточные культуры и гибридные линии, содержащие мутации мтДНК, могут служить моделями для изучения дисфункции митохондриального генома, биохимических и молекулярно-клеточных основ патологических процессов. Следует отметить, что в различных культурах клеток наблюдаются схожие тенденции в изменениях функциональной активности rho0-клеток и гибридов при сравнении с нативными клеточными линиями. Например, такие тенденции, как снижение уровня потребления кислорода, морфологические изменения структуры митохондрий, устойчивость к апоптозу, снижение уровня потребления АТФ, повышение потребления глюкозы, ухудшение активности некоторых комплексов дыхательной цепи.

**Ключевые слова:** гибриды; митохондриальная дисфункция; rho0-клетки; мутация; митохондриальный геном, клеточная линия, мтДНК.

**Для цитирования:** Синёв В.В., Сазонова М.А., Карагодин В.П., Рыжкова А.И., Галицына Е.В., Мельниченко А.А., Демакова Н.А., Шкурат Т.П., Собенин И.А., Орехов А.Н. Изучение митохондриальной дисфункции с помощью цитоплазматических гибридов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(2): 92—97.  
DOI: 10.25557/0031-2991.2017.02.92-97

**Для корреспонденции:** Синёв Василий Владимирович, мл. науч. сотр. лаб. медицинской генетики отдела сердечно-сосудистой патологии РКНПК МЗ РФ, e-mail: centaureaceanus@mail.ru

**Финансирование.** Работа поддержана Российским научным фондом, грант № 14-14-01038.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила** 30.12.2016

Sinyov V.V.<sup>1</sup>, Sazonova M.A.<sup>1,2</sup>, Karagodin V.P.<sup>2</sup>, Ryzhkova A.I.<sup>2,4</sup>, Galitsyna E.V.<sup>2,5</sup>,  
Melnichenko A.A.<sup>2,5</sup>, Demakova N.A.<sup>5</sup>, Shkurat T.P.<sup>5</sup>, Sobenin I.A.<sup>1,2</sup>, Orekhov A.N.<sup>2,3</sup>

## Study of mitochondrial dysfunction using cytoplasmic hybrid

<sup>1</sup> FSBI «Russian Cardiology Research and Production Complex», Moscow, Russian Federation, 121552, Moscow, Cherepkovskaya 3rd street, 15-a

<sup>2</sup> FSBSI Institute of General Pathology and Pathophysiology, 125315, Moscow, Baltiyskaya street, 8

<sup>3</sup> Institute for Atherosclerosis Research, Skolkovo Innovative Centre, 121609, Moscow Region, Skolkovo, Novaya street, 100

<sup>4</sup> Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology by K.I. Skryabin, 109472, Moscow, Academica Skryabina street, 23

<sup>5</sup> Southern Federal University, 344006, Rostov-on-Don, Bolshaya Sadovaya street, 105/42.

**Aim.** This review article describes literature sources devoted to the investigation of mitochondrial dysfunction using cytoplasmic hybrids (cybrids). The presented studies were carried out on cultures of hybrid cell lines HL60, MOL T-4, A549,

143B, HeLa, Arpe-19, HEK-293, SH-SY5Y and NT2. According to the analysis of scientific world literature, some of the most promising models for studying mitochondrial dysfunction are cell cultures without mitochondria (rho0) and cytoplasmic hybrids containing one or several mutations of mitochondrial genome. In the review scientific researches on studying biochemical and molecular cellular pathological processes in cybrid cells in various human diseases such as Alzheimer's disease and mild cognitive impairment, MERRF and MELAS syndromes, Leber's optic atrophy and Parkinson's disease were considered. Material dedicated to cybrids as potential models for the study of treatment possibilities was presented separately. **Conclusion.** The analyzed in the review rho0-cell cultures and cybrid lines containing mtDNA mutations may be models for the study of mitochondrial genome dysfunctions, biochemical and molecular cellular pathological processes. It is worth noting that in various cell cultures, similar tendencies are observed in functional activity changes of rho0-cell and cybrids compared with native cell lines. For example, such tendencies as reduction of oxygen consumption level, morphological changes of mitochondrial structure, resistance to apoptosis, reduction of ATP consumption level, increase in glucose consumption, activity deterioration of some respiratory chain complexes.

**Keywords:** cybrids; mitochondrial dysfunction; rho0-cells; mutation; mitochondrial genome; cell line; mtDNA.

**For citation:** Sinyov V.V., Sazonova M.A., Karagodin V.P., Ryzhkova A.I., Galitsyna E.V., Melnichenko A.A., Demakova N.A., Shkurat T.P., Sobenin I.A., Orekhov A.N. Study of mitochondrial dysfunction using cytoplasmic hybrid. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2017; 61(2): 92–97. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2017.02.92-97

**For correspondence:** Vasilij V. Sinyov, Junior Research Scientist, Laboratory of Medical Genetics, Russian Cardiology Research and Production Complex, Moscow, Russian Federation, 121552, Moscow, Cherepkovskaya 3rd street, 15-a, e-mail: centaureaceanus@mail.ru

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgement.** This work was supported by the Russian Scientific Foundation (Grant # 14-14-01038).

#### Information about authors:

Sinyov V.V., <http://orcid.org/0000-0001-5105-5763>

Sazonova M.A., <http://orcid.org/0000-0001-7382-7197>

Karagodin V.P., <http://orcid.org/0000-0003-0501-8499>

Ryzhkova A.I., <http://orcid.org/0000-0002-8838-7750>

Galitsyna E.V., <http://orcid.org/0000-0003-2305-4936>

Melnichenko A.A., <http://orcid.org/0000-0002-4989-7600>

Demakova N.A., <http://orcid.org/0000-0002-2896-3859>

Shkurat T.P., <http://orcid.org/0000-0001-6197-7374>

Sobenin I.A., <http://orcid.org/0000-0003-0978-6444>

Orekhov A.N., <http://orcid.org/0000-0002-6495-1628>

Received 30.12.2016

## Введение

Цитоплазматические гибриды (цибриды) в настоящее время являются одними из наиболее перспективных моделей для изучения митохондриальной дисфункции клеток, и, в частности, роли мутаций митохондриального генома в развитии патологического процесса.

Цибриды — это клеточные линии, полученные с помощью слияния rho0-клеток (безмитохондриальных) с клетками-донорами цитоплазмы, содержащей митохондрии. Для создания морфологически однородных и устойчивых к многократному пересеванию цибридных линий преимущественно используют постоянные клеточные линии, т.е. те клетки, которые прошли этап дедифференцировки. В большинстве экспериментов ученые из различных стран используют линии 143B [1—8]; реже — HEK293 [9,10], HeLa [11,12] и HL60 [13].

Для создания rho0-клеточных линий, в основном, используют стандартную методику М. Кинга и Г. Атгарди, которая основана на применении ингибиторов репликации митохондриальной ДНК (мтДНК), таких, как ДНК-интеркалирующий краситель этидиум бромид (3,8-диамино-5-этил-6-фенилфенантридиум бромид). Низкие концентрации этидиум бромида (от 0,1 до 2 мкг/мл) частично или полностью ингибируют репликацию митохондриального генома, но не оказывают никакого влияния на репликацию ядерной ДНК [14].

В качестве клеток-доноров митохондрий некоторые исследователи используют энуклеированные цитопласты, которые сливаются с rho0-клетками под воздействием постоянного электрического тока (электрослияние) [15]. Но чаще всего в качестве клеток-доноров митохондрий успешно применяются

тромбоциты, которые под действием полиэтиленгликоля 1500 сливаются с rho0-клетками (ПЭГ-слияние) [16, 17].

### Модели rho0-клеток для исследования дисфункции митохондрий

Исследователи из Новой Зеландии проанализировали эффективность воздействия транс-ретиноевой кислоты и триозида мышьяка на дифференцировку и выживаемость клеток в человеческих лейкозных клеточных линиях HL60 и безмитохондриальных HL60rho0. В результате клетки HL60rho0 обладали меньшей способностью к дифференцировке, но большей дыхательной активностью, чем родительские HL60 клетки. HL60rho0 клетки были также значительно более устойчивы к апоптозу [13].

Американские исследователи провели сравнительный анализ уровня потребления кислорода в культурах человеческих лимфобластов MOLT-4 дикого типа и rho0. Темпы потребления кислорода в безмитохондриальной культуре были значительно ниже по сравнению с нативной культурой (в 7 раз). Уровень потребления кислорода одинаково изменялся в нативной и безмитохондриальной клеточной линии MOLT-4 как при ингибировании данного уровня пара-хлоромеркуробензоатом (PCMB), так и при стимуляции менадионом бисульфита натрия (MSB). В то же время, цианистый калий снижал, а карбонил цианид м-хлорфенилгидразон (CCCP) повышал норму потребления кислорода только в нативной культуре MOLT-4. Авторы работы предполагают, что это может быть связано с отсутствием важных белковых субъединиц ферментов, кодирующихся генами митохондриального генома. Возникающая при этом дисфункция ферментов митохондрий, в свою очередь, приводит к нарушению переноса электронов в дыхательной цепи [18].

Ученые из США сравнили ультраструктурную морфологию митохондрий человеческой эпителиальной клеточной линии A549 дикого типа и rho0-клеток. Безмитохондриальная культура содержала митохондрии неправильной формы с полупрозрачным матриксом, в отличие от нативной клеточной линии. Кроме того, морфология митохондриальных крист rho0-клеток была более разнообразной: встречались, например, короткие и круговые выросты внутренней мембраны митохондрий. Также авторы анализировали воздействие на данные клеточные культуры блеомицина, который является противоопухолевым агентом и в клиническом применении приводит к повреждению легких, а у 1—2% пациентов к тяжелому прогрессирующему легочному фиброзу. Было показано, что rho0-клетки линии A549 устойчивы к действию

блеомицина, что, по мнению авторов, может быть связано с ухудшением митохондриально-зависимого апоптоза [19].

### Циридные модели для изучения митохондриальной дисфункции

1. *Изучение связи мутаций мтДНК с митохондриальной дисфункцией.* Исследователи из Португалии продемонстрировали изменения в окислительном фосфорилировании (OXPHOS) при сравнении двух циридных линий, полученных на основе клеточной линии 143B: дикого типа и несущей мутацию m.3243A>T в митохондриальном геноме. Полученные результаты свидетельствуют, что цириды с мутацией в позиции 3243 имели низкую скорость поглощения кислорода по сравнению с диким типом. Также в циридных клетках с однонуклеотидной заменой m.3243A>T наблюдался более высокий уровень потребления глюкозы и лактата. Ингибирование комплекса V олигомицином значительно снижало скорость потребления кислорода в клетках дикого типа, но в клетках с мутацией мтДНК такая скорость оставалась на прежнем уровне. Помимо дисфункции митохондрий, исследователи обнаружили, что в культуре *in vitro* циридные клетки с мутантным аллелем имели более низкие темпы роста по сравнению с диким типом. Однако, при введении данных культур «голым» мышам, циридная линия с m.3243A>T инициировала развитие более крупной опухоли, а также имела более высокий метастатический потенциал, чем у циридной линии дикого типа [20].

Ученые из Китая провели исследование циридных клеточных культур, несущих мутацию m.10003T>C (мутация ассоциирована с сахарным диабетом 2 типа). Безмитохондриальная культура (rho0) была получена из клеточной линии HeLa. Было обнаружено, что количество tRNAGly по сравнению с контролем было снижено на 97%. Установлено, что базовая скорость клеточного дыхания, митохондриальный мембранный потенциал, количество копий мтДНК и скорость потребления кислорода в циридных клетках были значительно ниже по сравнению с контрольной группой [21].

Японские исследователи проанализировали влияние крупной делеции митохондриального генома на функцию ферментов циридной культуры, полученной на основе клеток HeLa. Наличие делеции более чем в 60% мтДНК приводило к ингибированию цитохром С-оксидазы [12].

2. *Исследование влияния гаплогрупп митохондриального генома на митохондриальную дисфункцию.* Американские ученые изучали митохондриальную дисфункцию в эпителиальных клетках цирид-

ных линий, созданных на основе культуры Агре-19, несущих гаплогруппу L (распространенную у лиц африканского происхождения) или H (распространенную у европеоидов). Обнаружено, что гибриды с гаплогруппой L имели более высокий уровень экспрессии 9 генов комплексов дыхательной цепи, снижение расхода АТФ и более низкий уровень производства активных форм кислорода. Тромбоциты, используемые в качестве клеток-доноров митохондрий, были взяты от 3 добровольцев с гаплогруппой H и от 3 добровольцев с гаплогруппой L [22].

Исследователи из Австрии оценивали коэффициент выживаемости клеточной линии НЕК-293. Из данной культуры клеток получали гибриды, несущие, в одном случае, гаплогруппу T, а в другом — гаплогруппу H. При обработке перекисью водорода гибриды с гаплогруппой T имели более высокий коэффициент выживаемости по сравнению с другой клеточной линией [9].

### Гибридные модели для изучения биохимических и молекулярно-клеточных патологических процессов при заболеваниях человека

1. *Болезнь Альцгеймера и умеренные когнитивные нарушения.* Группой ученых из Португалии и США была изучена биоэнергетическая дисфункция митохондрий и клеток культуры SH-SY5Y при болезни Альцгеймера и умеренных когнитивных нарушениях, а также клинических синдромах, предшествующих болезни Альцгеймера. Клетками-донорами мтДНК выступали тромбоциты пациентов. Выявлено, что в гибридах с «болезнью Альцгеймера» и с «умеренными когнитивными нарушениями» были более высокие соотношение АДФ/АТФ и более низкое НАД/НАДН по сравнению с гибридными клетками, в которых донором мтДНК выступала контрольная группа здоровых людей. Относительно контрольных клеток были также показаны изменения в потреблении кислорода и потреблении глюкозы [23].

Китайские и американские исследователи использовали в своей работе доноров с умеренными когнитивными нарушениями (7 пациентов с нарушениями и 7 здоровых). Клетками-донорами мтДНК выступали тромбоциты индивидов. Исходная клеточная линия — SH-SY5Y. Было показано, что митохондриальная плотность в гибридах с «умеренными когнитивными нарушениями» была ниже по сравнению с контрольными клетками. Длина митохондрий в гибридных клетках с «умеренными когнитивными нарушениями» была в 1,4 раза больше. При сравнении процесса клеточного дыхания в данных культурах клеток было установлено, что в гибридах с «умеренными когнитивными нарушениями» активность комплекса

I (НАДН-убихинон-редуктаза), III (убихинол-цитохром с-оксидоредуктаза) и IV (цитохром с-оксидаза) снизилась в 1,6; 1,5 и 1,3 раза (соответственно), по сравнению с контрольной группой гибридных клеток. Уровень АТФ в гибридных клеточных культурах с «умеренными когнитивными нарушениями» был статистически значимо ниже, чем в контроле. Кроме того, выявлен повышенный уровень окислительного стресса в гибридных клетках с «умеренными когнитивными нарушениями». Далее исследователи попытались оценить влияние антиоксидантной обработки на исследуемые гибридные линии. Было показано, что при воздействии на клетки препаратом «пробукол» у них прекращается производство активных форм кислорода, нормализуется мембранный потенциал митохондрий и активность комплекса I, а также восстанавливается уровень АТФ. Кроме того, пробукол способствовал укорочению длины митохондрий и повышению их плотности [24].

2. *Синдром MERRF (миоклоническая эпилепсия с рваными мышечными волокнами) и MELAS (митохондриальная энцефаломиопатия, лактатацидоз, инсультоподобные эпизоды).* Немецкие ученые в своей работе создали rho0-линии из клеток HeLa от пациентов с митохондриальной энцефалопатией и синдромом MERRF, обладающие сниженной активностью цитохрома С-оксидазой. Полученные rho0-клетки были слиты с безъядерными клетками HeLaCOT. В результате были получены гибриды с восстановленной оксидазной деятельностью цитохрома С [11].

Исследователи из Японии определяли митохондриальную дисфункцию в гибридных линиях на основе клеточной линии 143В, несущих мутантные митохондрии пациентов с митохондриальной миопатией, энцефалопатией, молочнокислым ацидозом и инсультоподобными эпизодами (MELAS). В данной работе использовался радиоактивный Cu-диацетил-бис (Н4-метилтиосемикарбазон) (Cu-ATSM), который является потенциальным маркером визуализации гипоксических опухолей для позитронно-эмиссионной томографии (ПЭТ). Гибридные клетки с MELAS имели повышенное поглощение Cu-ATSM при нормоксии по сравнению с клетками дикого типа. Также было показано, что поглощение Cu-ATSM коррелирует с изменением уровня НАДН и НАДФН [25].

3. *Атрофия зрительного нерва Лебера.* Группа ученых из Испании создала цитоплазматические гибриды на основе клеточной линии 143В. Данные гибриды имели мутации митохондриального генома «с различной степенью патогенности»: одна линия с тяжелой патогенностью (мутация m.8363G>A в гене tRNALys) и 3 линии с легкой патогенностью, а именно атрофией зрительного нерва Лебера (LHON).

Последние клеточные линии несли по одной мутации мтДНК в каждой цибридной культуре (мутации m.3460G> A гена MT-ND1, m.11778G> A гена MT-ND4 и m.14484T> C гена MT-ND6). Результаты исследования показали, что цибридные линии с легкой патогенностью несут OXPHOS дисфункции. Однако они не связаны с опухоленностью и не вызывают опухоли при введении «голым» мышам [26].

4. **Болезнь Паркинсона.** В исследовании американских ученых была оценена роль митохондриального метаболизма в регуляции аутофагии лизосомального пути на цибридной культуре, где в качестве донора митохондрий были выбраны пациенты с болезнью Паркинсона. Донором безмитохондриальных клеток для создания цибридов служила клеточная линия NT2. Было показано, что перенос митохондрий от этих пациентов в безмитохондриальные клетки позволяет воспроизвести изменения в аутофагической системе, наблюдаемые в мозге пациента с болезнью Паркинсона. Происходило повышенное накопление аутофагосом, связанное с их дисфункцией. Авторами было показано, что уменьшение активности аутофагосом связано с их недостаточной подвижностью при перемещении по направлению к лизосомам, возникающей из-за нарушения в микротрубочеч-зависимом транспорте. Было обнаружено, что в цибридах, созданных на основе митохондрий пациентов с болезнью Паркинсона, наблюдается удлинение митохондрий и структурные изменения митохондриального матрикса и крист. Кроме того, при индицировании аутофагии в культуре клеток выявлены отклонения от нормы белкового профиля, в частности, уровня белка Беклин-1 [27].

#### **Цибриды — потенциальная модель для исследования возможностей терапии**

Ученые из США создали цибридные нейробластомы с митохондриями от лиц с болезнью Паркинсона. В цибридных клетках обнаружено увеличение уровня окислительного стресса и частоты апоптоза по сравнению с нормальными клетками. При применении световой терапии, характерной для лечения неврологических заболеваний, наблюдалась нормализация функции дыхания митохондрий в цибридных клетках, созданных на основе культур SH-SY5Y и NT2 [28].

#### **Заключение**

Проанализированные в обзоре rho0-клеточные культуры и цибридные линии, содержащие мутации мтДНК, могут служить моделями для изучения дис-

функции митохондриального генома, биохимических и молекулярно-клеточных патологических процессов. Следует отметить, что в различных культурах клеток наблюдаются похожие тенденции в изменениях функциональной активности rho0-клеток и цибридов по сравнению с нативными клеточными линиями. Например, такие тенденции, как снижение уровня потребления кислорода, морфологические изменения структуры митохондрий, устойчивость к апоптозу, снижение уровня потребления АТФ, повышение потребления глюкозы, ухудшение активности некоторых комплексов дыхательной цепи.

Настоящий обзор литературы, посвященный изучению митохондриальной дисфункции с помощью цибридных клеточных культур, может быть полезен специалистам в области молекулярной и клеточной биологии, а также врачам для разработки подходов к терапии различных заболеваний человека.

#### **References**

1. Raap A.K., Jahangir Tafrechi R.S., van de Rijke F.M., Pyle A., Wahlby C., Szuhai K., et al. Non-random mtDNA segregation patterns indicate a metastable heteroplasmic segregation unit in m.3243A>G cybrid cells. *PLoS One*. 2012; 7(12):e52080.
2. Gamba J., Gamba L.T., Rodrigues G.S., Kiyomoto B.H., Moraes C.T., Tengan C.H. Nitric oxide synthesis is increased in cybrid cells with m.3243A>G mutation. *Int J Mol Sci*. 2012; 14(1): 394-410.
3. Ma Y., Bai R-K., Trieu R., Wong L-J.C. Mitochondrial dysfunction in human breast cancer cells and their transmitochondrial cybrids. *Biochim Biophys Acta — Bioenerg*. 2010; 1797(1): 29-37.
4. Bellizzi D., Taverna D., D'Aquila P., De Blasi S., De Benedictis G. Mitochondrial DNA variability modulates mRNA and intra-mitochondrial protein levels of HSP60 and HSP75: experimental evidence from cybrid lines. *Cell Stress Chaperones*. 2009; 14(3): 265-71.
5. Pye D., Kyriakouli D.S., Taylor G.A., Johnson R., Elstner M., Meunier B., et al. Production of transmitochondrial cybrids containing naturally occurring pathogenic mtDNA variants. *Nucleic Acids Res*. 2006; 34(13):e95.
6. Pallotti F., Baracca A., Hernandez-Rosa E., Walker W.F., Solaini G., Lenaz G., et al. Biochemical analysis of respiratory function in cybrid cell lines harbouring mitochondrial DNA mutations. *Biochem J*. 2004;384(Pt2):287-293.
7. Gustafson E.A., Schinazi R.F., Fingerroth J.D. Human herpesvirus 8 open reading frame 21 is a thymidine and thymidylate kinase of narrow substrate specificity that efficiently phosphorylates zidovudine but not ganciclovir. *J Virol*. 2000; 74(2): 684-92.
8. Trounce I., Neill S., Wallace D.C. Cytoplasmic transfer of the mtDNA nt 8993 T>G (ATP6) point mutation associated with Leigh syndrome into mtDNA-less cells demonstrates cosegregation with a decrease in state III respiration and ADP/O ratio. *Proc Natl Acad Sci*. 1994; 91(18):8334-8.
9. Mueller E.E., Brunner S.M., Mayr J.A., Stanger O., Sperl W., Kofler B. Functional differences between mitochondrial haplogroup T and haplogroup H in HEK293 cybrid cells. *PLoS One*. 2012; 7(12):e52367.

10. Mueller E.E., Mayr J.A., Zimmermann F.A., Feichtinger R.G., Stanger O., Sperl W., et al. Reduction of nuclear encoded enzymes of mitochondrial energy metabolism in cells devoid of mitochondrial DNA. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012;417(3):1052-1057.
11. Williams A.J., Murrell M., Brammah S., Minchenko J., Christodoulou J. A novel system for assigning the mode of inheritance in mitochondrial disorders using cybrids and rhodamine 6G. *Hum Mol Genet.* 1999; 8(9): 1691-7.
12. Hayashi J., Ohta S., Kikuchi A., Takemitsu M., Goto Y., Nonaka I. Introduction of disease-related mitochondrial DNA deletions into HeLa cells lacking mitochondrial DNA results in mitochondrial dysfunction. *Proc Natl Acad Sci.* 1991;88(23):10614-10618.
13. Herst P.M., Hesketh E.L., Ritchie D.S., Berridge M.V. Glycolytic metabolism confers resistance to combined all-trans retinoic acid and arsenic trioxide-induced apoptosis in HL60p0 cells. *Leuk Res.* 2008; 32(2): 327-33.
14. King M.P., Attardi G. Isolation of human cell lines lacking mitochondrial DNA. *Methods Enzymol.* 1996; 264: 304-13.
15. Jun A.S., Trounce I.A., Brown M.D., Shoffner J.M., Wallace D.C. Use of transmitochondrial cybrids to assign a complex I defect to the mitochondrial DNA-encoded NADH dehydrogenase subunit 6 gene mutation at nucleotide pair 14459 that causes Leber hereditary optic neuropathy and dystonia. *Mol Cell Biol.* 1996;16(3):771-777.
16. Chomyn A., Lai S.T., Shakeley R., Bresolin N., Scarlato G., Attardi G. Platelet-mediated transformation of mtDNA-less human cells: analysis of phenotypic variability among clones from normal individuals—and complementation behavior of the tRNALys mutation causing myoclonic epilepsy and ragged red fibers. *Am J Hum Genet.* 1994;54(6):966-974.
17. Chomyn A. Platelet-mediated transformation of human mitochondrial DNA-less cells. *Methods Enzymol.* 1996; 264: 334-9.
18. Shen J., Khan N., Lewis L.D., Armand R., Grinberg O., Demidenko E., et al. Oxygen consumption rates and oxygen concentration in molt-4 cells and their mtDNA depleted (rho0) mutants. *Biophys J.* 2003; 84(2Pt1): 1291-8.
19. Brar S.S., Meyer J.N., Bortner C.D., Van Houten B., Martin W.J 2nd. Mitochondrial DNA-depleted A549 cells are resistant to bleomycin. *AJP Lung Cell Mol Physiol.* 2012; 303(5): 413-24.
20. Nunes J.B., Peixoto J., Soares P., Maximo V., Carvalho S., Pinho S.S., et al. OXPHOS dysfunction regulates integrin-β1 modifications and enhances cell motility and migration. *Hum Mol Genet.* 2015; 24(7): 1977-90.
21. Li W., Wen C., Li W., Wang H., Guan X., Zhang W., et al. The tRNA(Gly) T10003C mutation in mitochondrial haplogroup M11b in a Chinese family with diabetes decreases the steady-state level of tRNA(Gly), increases aberrant reactive oxygen species production, and reduces mitochondrial membrane potential. *Mol Cell Biochem.* 2015; 408(1-2): 171-9.
22. Kenney M.C., Chwa M., Atilano S.R., Falatoonzadeh P., Ramirez C., Malik D. et al. Molecular and bioenergetic differences between cells with African versus European inherited mitochondrial DNA haplogroups: implications for population susceptibility to diseases. *Biochim Biophys Acta — Mol Basis Dis.* 2014; 1842(2): 208-19.
23. Silva D.F., Selfridge J.E., Lu J., Lezi E., Roy N., Hutfles L. et al. Bioenergetic flux, mitochondrial mass and mitochondrial morphology dynamics in AD and MCI cybrid cell lines. *Hum Mol Genet.* 2013; 22(19): 3931-46.
24. Gan X., Wu L., Huang S., Zhong C., Shi H., Li G. et al. Oxidative stress-mediated activation of extracellular signal-regulated kinase contributes to mild cognitive impairment-related mitochondrial dysfunction. *Free Radic Biol Med.* 2014; 75: 230-40.
25. Yoshii Y., Yoneda M., Ikawa M., Furukawa T., Kiyono Y., Mori T. et al. Radiolabeled Cu-ATSM as a novel indicator of overreduced intracellular state due to mitochondrial dysfunction: studies with mitochondrial DNA-less ρ0 cells and cybrids carrying MELAS mitochondrial DNA mutation. *Nucl Med Biol.* 2012; 39(2): 177-85.
26. Cruz-Bermudez A., Vallejo C.G., Vicente-Blanco R.J., Gallardo M.E., Fernandez-Moreno M.A., Quintanilla M. et al. Enhanced tumorigenicity by mitochondrial DNA mild mutations. *Oncotarget.* 2015; 6(15): 13628-43.
27. Arduino D.M., Esteves A.R., Cortes L., Silva D.F., Patel B., Grazina M. et al. Mitochondrial metabolism in Parkinson's disease impairs quality control autophagy by hampering microtubule-dependent traffic. *Hum Mol Genet.* 2012; 21(21): 4680-702.
28. Trimmer P.A., Bennett J.P.Jr. The cybrid model of sporadic Parkinson's disease. *Exp Neurol.* 2009; 218(2): 320-5.

### Сведения об авторах:

- Сазонова Маргарита Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. ангиопатологии НИИ ОПП;
- Карагодин Василий Петрович, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. ангиопатологии НИИ ОПП;
- Рыжкова Анастасия Игоревна, аспирант МГАВМиБ — МВА им. К. И. Скрябина;
- Галицына Елена Валерьевна, мл. науч. сотр. каф. генетики ЮФУ;
- Мельниченко Александра Александровна, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. ангиопатологии НИИ ОПП;
- Демакова Наталья Александровна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. биологии развития и организации генома каф. генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ;
- Шкурат Татьяна Павловна, доктор биол. наук, проф., зав. каф. генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского ЮФУ;
- Собенин Игорь Александрович, доктор мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. медицинской генетики РКНПК;
- Орехов Александр Николаевич, доктор биол. наук, проф., зав. лаб. ангиопатологии НИИ ОПП.