

# МИТОХОНДРИАЛЬНЫЙ ЛАКТАТ-ОКИСЛЯЮЩИЙ КОМПЛЕКС И ЕГО ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ГОМЕОСТАЗА КЛЕТОК (ОБЗОР)

О. В. Мещерякова, М. В. Чурова, Н. Н. Немова

*Учреждение Российской академии наук  
Институт биологии Карельского научного центра РАН, г. Петрозаводск, Россия,  
e-mail: mesch@krc.karelia.ru*

Интенсификация анаэробного синтеза АТФ является одним из важнейших механизмов регуляции энергетического обмена клеток при различных физиологических состояниях и приспособлении к изменению условий окружающей среды. Активизация гликолиза во многих клетках организма происходит в условиях, сопровождающихся дефицитом АТФ, который может возникать в результате: высокой скорости потребления АТФ и/или снижения уровня аэробного синтеза АТФ. В настоящее время в результате постоянного изменения условий среды и неблагоприятного воздействия антропогенных факторов в клетках различных органов и тканей животных наблюдается усиление анаэробного гликолиза, что является компенсаторной реакцией, направленной на поддержание уровня энергетического обмена в условиях снижения интенсивности процесса окислительного фосфорилирования в митохондриях клеток. Снижение уровня аэробного синтеза АТФ в клетках различных органов и тканей возможно при действии различных факторов, например: при снижении поступления кислорода в клетки, вызванном различными причинами, например – гипоксией, при нарушении структуры и функций митохондрий, при ингибировании активности ферментов окислительного фосфорилирования токсическими веществами, при действии на митохондрии разобщающих агентов, при развитии различных патологических процессов. Молочная кислота, образующаяся в избытке при интенсификации процесса анаэробного гликолиза, впервые была обнаружена Я. Берцелиусом в 1808 г. Позднее, в 1891 г. Араки показал в эксперименте, что количество лактата в мышцах после физической нагрузки пропорционально ее силе. С этого момента сложились первые представления

о роли лактата, как о конечном продукте анаэробного обмена в мышцах. Однако исследователям того времени лактат представлялся «ненужным клеточным отходом», пока лаборатория Кори не продемонстрировала возможность обратного превращения этого соединения в глюкозу в клетках печени. Современные исследования определили молочную кислоту новое место и роль в метаболизме – это активный системный метаболит, мигрирующий внутри клеток, между клетками и между органами, способный использоваться не только для ресинтеза глюкозы, но и вовлекаться в энергетический обмен клеток, в том числе, непосредственно окисляясь в митохондриях. Способность клеток различных органов утилизировать лактат в значительной степени определяет допустимый уровень анаэробного обмена, а следовательно, обуславливает относительную резистентность организма и его способность приспособляться к изменению параметров среды.

## Пути метаболизма молочной кислоты в организме

Наибольшие количества лактата в организме высших животных образуются в миоцитах гликолитических (синонимы: белые, быстрые, фазовые) поперечнополосатых мышечных волокон при субмаксимальной нагрузке. Гликолиз протекает также в эритроцитах, лейкоцитах, в клетках мозгового вещества почек и нервной ткани. Для поддержания нормального уровня рН избыточные количества молочной кислоты должны устраняться из клетки (Poole, Halestrap, 1993).

Существуют два пути устранения лактата: во-первых, образующийся лактат способен частично окисляться в тех же самых клетках, где он

образуется, это – так называемый – эндогенный лактат. Обычно это происходит в период снижения интенсивности анаэробных процессов и усиления аэробного метаболизма. Во-вторых, избыточные количества лактата выделяются клетками в межклеточное вещество и поступают в кровь. Большая часть молочной кислоты поглощается клетками других типов или других органов, имеющих высокую способность к его окислению. Лактат, поступающий в клетки из межклеточного вещества или крови, называется – экзогенным. Движение молочной кислоты между клетками и межклеточным веществом происходит благодаря существованию механизма межклеточного лактатного шунта (cell-cell lactate shuttle – CCLS).

К клеткам способным метаболизировать не только собственный – эндогенный, но также и экзогенный лактат относятся прежде всего – гепатоциты, кардиомиоциты, нейроны и миоциты аэробных (синонимы: красные, медленные, тонические) поперечнополосатых мышечных волокон, (Ketchum et al., 1988; Hashimoto, Brooks, 2008; Laughton et al., 2007; Hertz, Diemel, 2002; Juel, 2001). Однако, количество экзогенного лактата, поступающего в эти клетки, строго контролируется и определяется, прежде всего, необходимостью регуляции внутриклеточного pH. Это в свою очередь зависит от количества собственного – эндогенного лактата и скорости метаболических процессов, в которых утилизируется это соединение. Дальнейшая судьба лактата в клетках, способных поглощать экзогенный лактат зависит от особенностей их метаболизма и выполняемой функции. Большая часть лактата (75–80% лактата, образуемого в мышцах) поступает в клетки печени и почек и там включается в глюконеогенез. Другая часть экзогенной молочной кислоты включается в энергетический обмен кардиомиоцитов, нейронов и миоцитов красных волокон скелетных мышц. В настоящее время с использованием самых современных биохимических, иммуногистохимических, радиоизотопных и др. методов для клеток скелетных мышц, сердца и нейронов доказано существование внутриклеточного лактатного шунта (intracellular lactate shuttle – ILS), с помощью которого, лактат экзо-, а также эндогенного происхождения способен транспортироваться в митохондрии этих клеток и там подвергаться окислению. Доказано существование митохондриальной ЛДГ, а также белков-транспортёров лактата не только на клеточных, но и на митохондриальных мембранах (Hashimoto, Brooks, 2008;

Hashimoto et al., 2008; Lemire et al., 2008; Laughton et al., 2007; Schurr, Payne., 2007). Под действием мембраносвязанной митохондриальной ЛДГ, лактат, поступающий в митохондрии, превращается в пируват, который затем окисляется в цикле Кребса с образованием 18 молекул АТФ в процессе окислительного фосфорилирования.

### Межклеточный транспорт лактата

#### *Типы белков-переносчиков лактата, их структура и свойства*

Межклеточный транспорт лактата осуществляется с помощью специальных белков-транспортёров. Они называются – монокарбоксилатные переносчики (monocarboxylate transporters – MCTs) и представляют собой семейство генетически-родственных белков, различающихся аминокислотной последовательностью и кинетическими свойствами. Впервые, белок, ответственный за транспорт лактата был выделен из эритроцитов и назван MCT-1. Было установлено, что это – полипептид с молекулярной массой у шпорцевой лягушки 35–45 кДа, у кролика и морской свинки 40–50 кДа, (Poole, Halestrap, 1992, 1994). Позже была установлена аминокислотная последовательность этого белка, выделенного из эритроцитов человека, крыс и мышей (Garcia et al. 1994b; Jackson et al. 1995; Carpenter et al. 1996). Интенсивное изучение субстратов, кинетических свойств и ингибиторов транспорта монокарбоксилатных соединений, а также открытие второго переносчика (MCT-2) в кардиомиоцитах шпорцевой лягушки, крыс и человека (Poole, Halestrap, 1993; Halestrap et al. 1997; Lin et al., 1998) позволило исследователям сделать предположение о существовании целого семейства таких переносчиков. В дальнейшем у цыпленка был идентифицирован MCT-3 (Philp et al. 1995; Yoon et al. 1997; Yoon & Philp, 1998), а у человека и крыс помимо MCT-1, 2 были открыты транспортёры 4, 5, 6, 7 типа (Wilson et al. 1998). Был открыт также MCT-8 у человека (Price et al. 1998; Wilson et al. 1998) и мыши (Debrand et al. 1998). Поиски новых форм монокарбоксилатных транспортёров продолжаются, гомологи этих белков были обнаружены у дрозофилы *Drosophila melanogaster*, свободноживущей нематоды *Sulpholobus sulfataricus*, дрожжей *Sulpholobus sulfataricus*, кишечной палочки *Escherichia coli* и даже у архебактерий *Sulpholobus sulfataricus* (Price et al. 1998), что

свидетельствует об их важной роли в метаболизме и раннем эволюционном происхождении. На сегодняшний день известно уже 14 изоформ МСТ, изучен их аминокислотный состав, свойства и роль в метаболизме некоторых органов и тканей (Halestrap, Price, 1999; Halestrap, Meredith, 2004).

На основании данных об аминокислотных последовательностях монокарбоксилатных транспортеров Пуле и Хэлестрэпом была предложена модель их пространственной организации (Poole et al. 1996; Poole & Halestrap, 1997) (рис. 1). Все МСТs имеют 10–12 связанных между собой трансмембранных петлеобразных доменов с внутриклеточными С- и N-концевыми участками полипептидной цепи и большой петлей между 6 и 7 сегментами, обращенной внутрь

клетки. Предполагается, что две половинки молекулы переносчика дифференцированы по своим функциям (Saier, 1994). N-конец полипептидной цепи с участками 1–6 петель проявляет высокую консервативность для всех транспортеров, вероятнее всего эта часть молекулы отвечает за энергетическое сопряжение (через транспорт ионов  $H^+$  или  $Na^+$ ), прикрепление к мембране и/или поддержание структурной конформации. С-концевой участок молекулы с петлями 7–12 менее консервативен и различается у разных типов транспортеров, предполагается, что он отвечает за субстратную специфичность. Например, замена аминокислоты Фен<sub>360</sub> на Цис в 10 сегменте МСТ-1 приводит к смене субстрата с лактата на мевалонат (Kim et al. 1992; Garcia et al. 1994a).

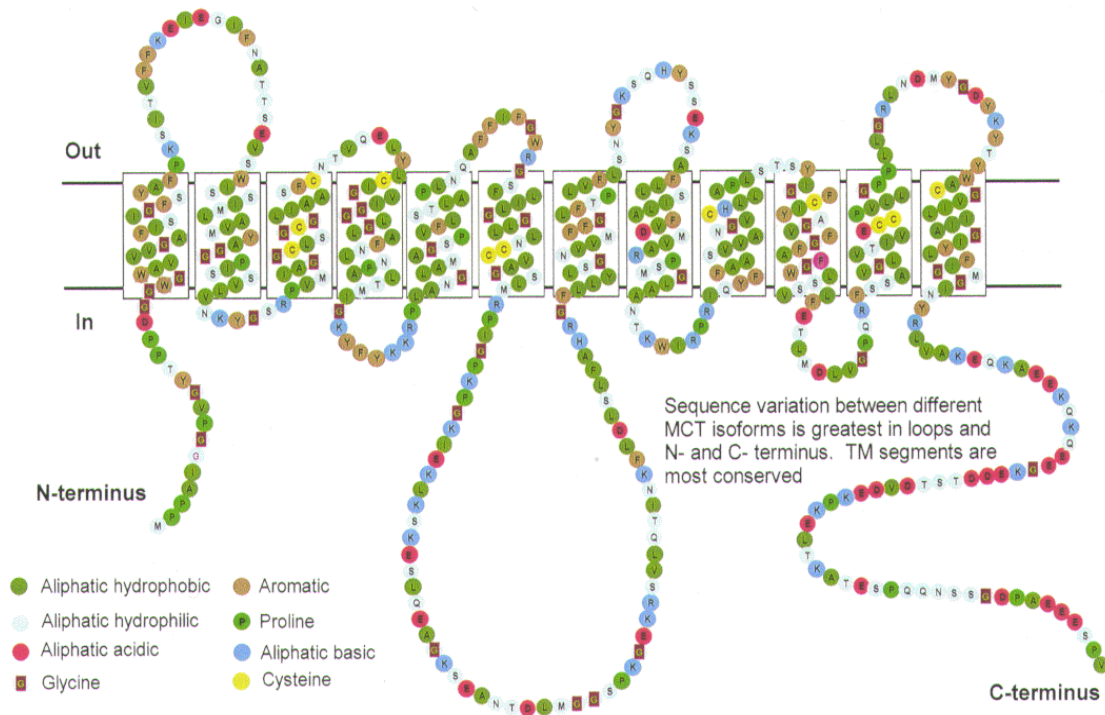


Рис. 1. Модель предполагаемой структуры семейства монокарбоксилатных переносчиков (Juel, Halestrap, 1999)

На основании степени совпадения первичной структуры сделаны выводы о генетическом родстве изоформ. В обзоре (Halestrap, Price, 1999) подробно описаны все известные монокарбоксилатные транспортеры про- и эукариот, хромосомная локализация кодирующих их генов и предложена схема их генетического родства. Наиболее родственными изоформами являются МСТ-1 и 2. Их структуры совпадают на 60% (Garcia et al. 1995; Wilson et al. 1998). Первичная структура МСТ-3 совпадает со структурой

МСТ-1 на 53% (Philp et al. 1995; Yoon et al. 1997; Yoon & Philp, 1998). Совпадение структур транспортеров 1 и 4 типа составляет 37%. Транспортеры МСТ-5, 6, 7 идентичны МСТ-1 всего лишь на 30–40%. Структуры МСТ-1 и 8 совпадают менее чем на 30%.

Изучены субстраты, субстратная специфичность и ингибиторы для различных типов МСТs (Carpenter & Halestrap (1994); Juel (1997), Lin et al., 1998; Bröer et al. (1998) Bröer et al. (1999). Установлено, что субстратами для монокарбок-

силатных переносчиков помимо лактата, являются и другие соединения – ацетат, пропионат, бутират, галогенпроизводные различных монокарбоксилатных соединений, пируват, 2-оксибутират и ацетоацетат. MCTs различаются по своей специфичности к тем или иным субстратам (Juele, Halestrap, 1999). Наиболее высокую субстратную специфичность к лактату проявляют MCT-1, 2 и 4, что подтверждается также их сильным генетическим родством. Транспортёры MCT-3, 5, 6, 7 имеют более низкую субстратную специфичность по отношению к лактату, а MCT-8 вообще не участвует в транспорте лактата. Ряд соединений оказывает ингибирующее влияние на транспорт лактата через переносчики того или иного типа, это – замещенные монокарбоксилаты ( $\alpha$ -циано-4-гидроксициннамат, фенилпируват и др.), замещенные дисульфонаты (5-нитро-2-(3-фенилпропиламино)-бензоат и др.), лизиновые, аргининовые и сульфгидрильные реагенты и другие соединения.

#### *Тканевая дифференциация различных изоформ MCTs*

Показано (Bonen et al., 2006), что различные изоформы MCTs, идентифицируются в клетках многих органов, однако тканеспецифичность экспрессии различных изоформ и кинетические свойства еще до конца не изучены. Известно, что мембраны эритроцитов содержат преимущественно MCT-1 (Poole et al., 1996), который является самым распространенным транспортёром, он обнаружен на мембранах клеток практически всех органов многих высших животных (Halestrap, Price, 1999). Мембраны лейкоцитов содержат большое количество MCT-4 (Halestrap, Price, 1999). В кардиомиоцитах обнаружены MCT-1, 2 и незначительные количества транспортёров 6 и 8 типа (Halestrap et al., 1997; Halestrap, Price, 1999; Brooks et al., 1999; Bonen et al., 2006). На клеточных мембранах гликолитических (синонимы: белые, быстрые, фазовые) поперечнополосатых мышечных волокон млекопитающих и человека идентифицируются, главным образом, MCT-4, а клетки аэробных (синонимы: красные, медленные, тонические) поперечнополосатых мышечных волокон экспрессируют большое количество MCT-1 (Bonen et al., 1997; Brooks et al., 1999; Juele, Halestrap, 1999; Juel, 2001; Bergersen, 2007). Было установлено также, что количество MCT-1 в мышечных клетках прямо пропорционально количеству митохондрий (Halestrap, Price, 1999). В скелетных мышцах грызунов и человека встречаются так-

же изоформы MCT-5, 6, 7 и 8 но в меньших количествах (Bonen et al., 2006). В печени преобладают транспортёры 2 типа (McClelland et al., 2003), в плаценте – 5 и 6, в почках – 1, 2, 6 и 8, в поджелудочной железе – 7 типа (Garcia et al., 1995; Halestrap, Price, 1999). Межклеточные монокарбоксилатные транспортёры идентифицированы во многих субструктурах головного мозга крыс и человека, но наибольшее их количество обнаружено на мембранах нейронов и представлено типом MCT-2. В астроцитах и эпителиальных клетках кровеносных сосудов головного мозга экспрессируются преимущественно MCT-1 и MCT-4 (Hertz, Dienel, 2005). В ретине глаза цыпленка были идентифицированы MCT-1, 4 и высоко специфичный MCT-3 – исключительно в ее эпителиальных клетках (Philp et al., 1995; Yoon et al. 1997; Yoon & Philp, 1998). В ооцитах шпорцевой лягушки *Xenopus laevis* L. был обнаружен MCT-4 (Juel, Halestrap, 1999). В сперматозоидах мышей в области головки идентифицирован MCT 1 типа, а в области хвоста – 2 типа (Garcia et al., 1995).

#### *Направление и кинетические параметры транспорта лактата на межклеточном уровне и в системе целого организма*

На сегодняшний день наиболее изучены кинетические параметры межклеточного транспорта лактата переносчиками MCT-1, 2 и 4 в клетках мышц и головного мозга крыс и человека (на водных организмах таких работ не проводилось). Первые работы в этом направлении были проведены на миоцитах скелетных мышц и сердца (Juel, 1997; Juel & Pilegaard, 1998; Wilson et al. 1998; Juele, Halestrap, 1999). Установлено, что MCT-4, синтезирующийся в большом количестве на клеточных мембранах гликолитических скелетных мышечных волокон млекопитающих и человека, осуществляет перенос лактата преимущественно из клеток в межклеточное вещество. Этот транспортёр имеет самое низкое сродство к лактату, и насыщается только при очень высоких концентрациях лактата. Его Константа Михаэлиса-Ментен для лактата ( $K_{m\text{Lac}}$ ) равна 20–40 мМ), что позволяет регулировать интенсивность потока выведения лактата через него в очень широких пределах, не прибегая к значительному увеличению количества самих переносчиков. Выводимая в межклеточное вещество молочная кислота способна на первом этапе поглощаться соседними клетками – аэробными миоцитами скелетных мышц, в клетки которых она попадает через MCT-1. Излишние ко-

личества молочной кислоты из межклеточного вещества скелетных мышц поступают в кровь и уже из крови усваиваются преимущественно кардиомиоцитами и гепатоцитами, в клетки которых она попадает через МСТ-1 и МСТ-2 (García et al., 1995). Эти типы переносчиков в данных типах клеток осуществляют движение лактата, главным образом, внутрь клетки. Количество молочной кислоты, поступающее через них в клетки, ограничено из-за их быстрой насыщаемости, особенно МСТ-2, так как, он имеет самое высокое сродство к лактату ( $Km_{Lac} = 0,7$  мМ). МСТ-1 имеет промежуточное значение сродства к лактату, его  $Km_{Lac}$  равна 5 мМ. Таким образом, главным регулирующим механизмом поступления экзогенного лактата в клетки красных мышц, сердца и печени является количество переносчиков 1 и 2 типа, сосредоточенных на мембранах этих клеток. Наибольшее количество переносчиков этого типа обнаружено на мембранах гепатоцитов, что обуславливает потребление ими наибольшего количества молочной кислоты из притекающей крови.

При активизации работы мозга значительно возрастает уровень анаэробного обмена и образования молочной кислоты в норме с 1 до 3 мМ, а при патологии – до 10 мМ (Dienel and Hertz, 2001; Dienel and Cruz, 2003, 2004). С 1998 г. предполагалось, что избыток лактата, образующийся главным образом в астроцитах, может транспортироваться в нейроны и включаться в их энергообмен, однако по поводу интенсивности такого транспорта между учеными шли серьезные дебаты (McKenna et al., 1998; Magistretti et al., 1999; Dienel and Hertz, 2001; McKenna et al., 2001; Chih and Roberts, 2003; Pellerin and Magistretti, 2003; Debernardi et al., 2003; Dienel and Cruz, 2003, 2004; Hertz, 2004). Подробное изучение транспортной кинетики МСТs клеток головного мозга Хертцом и Диенелом (Hertz, Dienel, 2005) подтвердило этот факт, однако показало, что во время значительной активации анаэробного обмена в субструктурах головного мозга и снижении нейроны могут усвоить только часть образующегося лактата, оставшееся количество поступает в кровь и удаляется из головного мозга. При снижении уровня анаэробного обмена нейроны способны усваивать лактат, образующийся не только в астроцитах, но и поступающий из общего кровотока. При исследовании транспортной кинетики лактата в различных типах клеток головного мозга было установлено, что на мембранах астроцитов идентифицируются МСТ-1 и МСТ-4,

имеющие низкое сродство к лактату ( $Km_{Lac}$  равна, соответственно 3–5 и 15–30 мМ) и не насыщающиеся при физиологических концентрациях лактата. Это способствует неограниченному удалению лактата из них даже при ненормально высоких его концентрациях. Транспортёр МСТ-2, экспрессирующийся в нейронах осуществляет транспорт молочной кислоты только внутрь клетки. Он имеет очень высокое сродство к лактату ( $Km_{Lac} = 0,6–0,7$  мМ) и уже при физиологическом уровне молочной кислоты в 3 мМ насыщается на 80% и почти достигает своей максимальной скорости, что регулирует поступление молочной кислоты в нейроны, поддерживает их гомеостаз и защищает от поступления высоких (патологических) концентраций лактата. При увеличении количества транспортеров 2 типа на мембранах нейронов значительно возрастает и количество окисляемого лактата в них.

При изучении монокарбоксилатных транспортеров в ретине глаза было описан аналогичный механизм (Halestrap, Price, 1999; Nehlig, Coles, 2007). С помощью МСТ 1 типа лактат способен перемещаться в пределах различных типов клеток ретины. МСТ-2 с высоким сродством к лактату осуществляет преимущественно его транспорт из глиальных клеток во внутрь нейронов, а специфический МСТ-3 обнаруженный исключительно на мембранах эпителиальных клетках ретины осуществляет удаление избыточных количеств молочной кислоты в микрокапилляры. Исследователи считают, что совместное функционирование МСТs 1 и 3 типа играет дополнительную роль, регулируя осмотическое давление внутри ретины, так как было обнаружено, что транспорт лактата в этой структуре сопровождается переносом воды (Zeuthen, 1996).

Таким образом, соотношение количества различных типов переносчиков, различающихся по своим кинетическим свойствам, на мембранах клеток различных тканей и органов является фактором, регулирующим интенсивность и направление метаболизма лактата между клетками различных типов, между клетками и кровью, между кровью и органами, то в системе всего организма в целом.

### **Окисление лактата в митохондриях клеток**

Как было сказано выше, некоторая часть эндо- и экзогенного лактата способна проникать в митохондрии клетки и там окисляться, включаясь в процесс окислительного фосфорилиро-

вания. Предположения о возможности митохондриального окисления лактата существовали очень давно, однако только в последние годы детально был раскрыт механизм этого процесса.

В 1972 году Скиллетер и Кун (Skilleter, Kun, 1972) используя полярографический метод одними из первых показали, что митохондрии, выделенные из печени крыс, способны окислять лактат. Впоследствии, было показано, что окисление лактата у крыс может происходить также в митохондриях сердца (Ким и др., 1990) и скелетных мышц (Szczesna-Kaczmarek, 1990). При этом было установлено, что процесс окисления лактата в митохондриях активируется добавлением лактата, НАД<sup>+</sup> и сопровождается увеличением поглощения кислорода, которое регулировалось АДФ и неорганическим фосфатом. Митохондриальное окисление лактата ингибировалось специфическим ингибитором ЛДГ – оксаматом, а также ингибиторами электронтранспортной цепи митохондрий (ротенон, антимицин А, цианид калия). Одновременно с изучением процесса окисления лактата в митохондриях, многими исследователями (Marcolette et al., 1970; Skilleter, Kun, 1972; Ayub Khan, 1973; Усатенко и др., 1973, 1974; Coleman et al., 1976; Lluís, 1985; Sagrista, Bosal, 1987; Prunonosa et al., 1989; Javed et al., 1990; Brooks et al., 1999) активно велись работы по изучению самой митохондриальной ЛДГ (мЛДГ): ее изоферментного состава, тканеспецифичности, свойств, локализации и др. вопросов. Было обнаружено, что мЛДГ локализуется в митохондриях в межмембранном пространстве и связана непосредственно с наружной стороной внутренней мембраны (Skilleter, Kun, 1972). Митохондриальная ЛДГ была обнаружена в клетках многих органов, таких как печень, мышцы, сердце, костной и нервной ткани (Marcolette et al., 1970; Усатенко и др. 1973 и 1974; Hanker et al., 1977; Javed et al., 1990; Brooks et al., 1999). Электрофорез в геле и электронная микроскопия органов крысы (Brooks et al., 1999) показала, что распределение мЛДГ тканеспецифично. В митохондриях сердца обнаружены изоферменты ЛДГ-1 (H4) и ЛДГ-5 (M4), но преобладают ЛДГ-1. В митохондриях печени и красных мышц была наиболее активна изоформа ЛДГ-5. Джавед с сотр. (Ayub Khan, 1973; Javed et al., 1990) выделил и отчистил митохондриальную форму ЛДГ из клеток печени кролика и сравнил ее свойства с цитоплазматической формой. Удельная активность митохондриальной и цитоплазматической форм

составляла, соответственно, 9,76 и 25,69 ед/мг белка, а  $K_m_{Lac}$  соответственно, 165 и 20 ммоль. рН-оптимум для обеих изоформ составлял 8,5; они ингибировались пируватом и НАДН.

В настоящее время установлено, что окисление лактата в митохондриях осуществляется митохондриальным лактат-окисляющим комплексом (mitochondrial lactate oxidation complex, mLOC) (рис. 2). Впервые, существование этого комплекса было доказано для клеток скелетных мышц (Hashimoto et al., 2006; Hashimoto, Brooks, 2008). Было установлено, что он состоит из мембраносвязанной митохондриальной ЛДГ, цитохром с оксидазы, белка-транспортера лактата МСТ-1 и его шаперона ОХ-47 (CD-147), контролирующем его экспрессию. Пируват, образующийся при окислении поступающего в митохондрии лактата, переносится в матрикс митохондрий с помощью МСТ-1 и там окисляется в цикле трикарбоновых кислот (ТКА). Митохондриальная ЛДГ (mLDH) сосредоточена на наружной стороне внутренней мембраны митохондрий и ассоциирована с цитохром с оксидазой (СОХ), что обеспечивает сопряжение эндогенной реакции окисления лактата с экзогенным изменением редокс-потенциала в электронтранспортной цепи митохондрий при окислении цитохрома с.

Позднее существование митохондриального лактат-окисляющего комплекса было доказано также и для клеток головного мозга (Hashimoto et al., 2008). Методом иммуногистохимического анализа мозга крысы продемонстрировано, что МСТ-1, МСТ-2, мЛДГ и ЦО совместно локализуются внутри митохондрий нейронов головного мозга. Методом иммуноблоттинга после иммунопреципитации показано, что эти 4 компонента осаждаются также вместе. Обнаружено также, что МСТ-2 и мЛДГ коэкспрессируются в митохондриях культуры нейронов. Лемье с сотр. (Lemire et al., 2008) с помощью электрофореза и флуоресцентной микроскопии выявил наличие ЛДГ в митохондриях клеток мозга человека, а с использованием <sup>13</sup>С-ЯМР анализа и жидкостной хроматографии были идентифицированы продукты ЦТК и АТФ в митохондриях астроцитов человека после их инкубации с лактатом. Полученные сведения подтверждают, что митохондриальный лактат-окисляющий комплекс (mLOC) нервных клеток служит механизмом утилизации лактата, эндо- и экзогенного происхождения и демонстрируют адаптивность мозга в манипуляциях своим «энергетическим бюджетом».

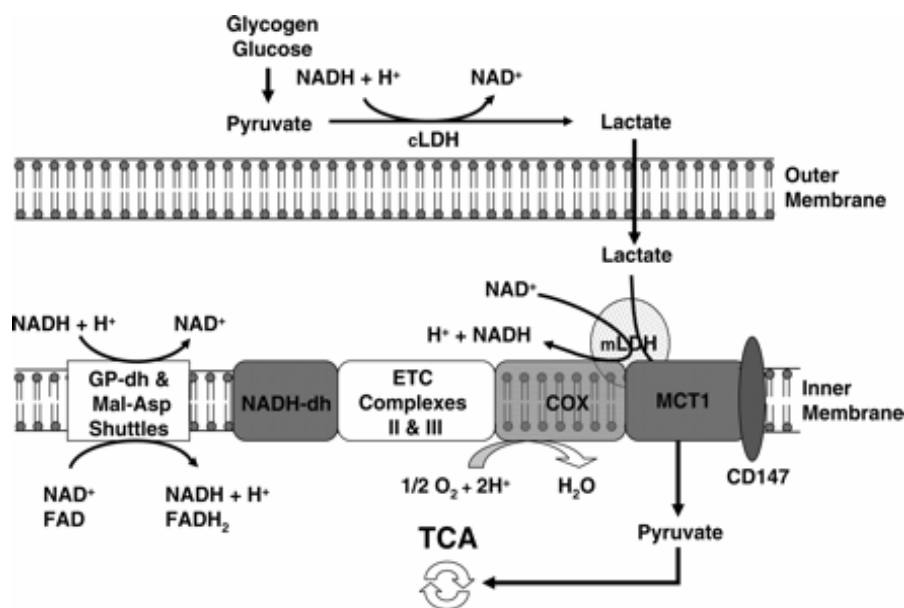


Рис. 2. Структура митохондриального лактат-окисляющего комплекса (Hashimoto et al., 2008)

Брукс и Хашимото (Brooks, 2000; Hashimoto, Brooks, 2008), считают, что фактором регулирующим скорость процесса окисления лактата в митохондриях является уровень молочной кислоты в клетке. По их мнению, молекула лактата является некой «сигнальной молекулой», специальным «гормоном» или как они называют ее – «лактормоном» (от англ. «lactormone»), которая вызывает адаптивные перестройки метаболизма лактата в митохондриях, за счет активации экспрессии генов синтеза митохондриального белка-транспортера лактата, митохондриальной ЛДГ и цитохромоксидазы. Считается, что перемещение лактата в митохондрии и аллостерическая модуляция скорости фосфорилирования – это пример быстрой регуляции метаболизма, в то время как транспорт лактата через клеточную мембрану в другие структуры и увеличение числа межклеточных транспортеров – это длительный адаптационный механизм. Таким образом, перемещение лактата в митохондрии и окисление его там является предпочтительным и первоочередным, по сравнению с транспортом лактата из клетки и уровнем окисления лактата в митохондриях является фактором, регулирующим скорость выделения лактата из клетки.

Способность митохондрий к окислению лактата является важнейшим адаптивным механизмом регуляции энергообеспечения клеток многих органов как в норме, так и при патологии. В частности, обнаружено усиление митохондриального окисления лактата при интенсивном развитии нервной системы, голодании, при физической нагрузке. Особое значение этот про-

цесс имеет для клеток головного мозга, где может значительно активизироваться процесс анаэробного синтеза АТФ. Например, Канис с соавт. (Canis et al., 2008) в экспериментах на мозге крыс обнаружил, что при экспериментальной гипергликемии усиливается местный транспорт глюкозы в нервную ткань и ее окисление астроцитами с образованием лактата. Методом иммуноавтордиографии было показано значительное увеличение плотности МСТ-1 на 10–24% в астроцитах, а также эндотелиальных клетках и МСТ-2 в нейронах головного мозга. При этом, увеличение плотности переносчиков лактата коррелировало с увеличением уровня окисления глюкозы в астроцитах головного мозга.

Из всего сказанного следует что, активность мембраносвязанной митохондриальной ЛДГ и уровень митохондриального окисления лактата в клетках различных органов в значительной степени определяют адаптивные возможности тканей, органов и всего организма в целом. В связи с этим, очень актуальными являются исследования таких вопросов, как – тканеспецифичность метаболизма молочной кислоты, межвидовые, возрастные, половые различия, эволюционный и экологический аспекты, взаимосвязь с патологическими процессами.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 08-04-0140\_a и Программы Президента РФ «Ведущие научные школы» НШ-3731.2010.4 и ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 гг.» проект НК-28(12).*

## Литература

- Alcazar O, Tiedge M, Lenzen S. Importance of lactate dehydrogenase for the regulation of glycolytic flux and insulin secretion in insulin-producing cells. *Biochem J*. 2000 Dec 1;352 Pt 2:373-80.
- Bonen, A., Baker, S. K. & Hatta, H. (1997). Lactate transport and lactate transporters in skeletal muscle. *Canadian Journal of Applied Physiology* 22, 531–552.
- Bröer, S., Bröer, A., Schneider, H.-P., Stegen, C., Halestrap, A. P. & Deitmer, J. W. (1999). Characterisation of the high-affinity monocarboxylate transporter MCT2 in *Xenopus laevis* oocytes. *Biochemical Journal*.
- Bröer, S., Schneider, H. P., Bröer, A., Rahman, B., Hamprecht, B. & Deitmer, J. W. (1998). Characterization of the monocarboxylate transporter 1 expressed in *Xenopus laevis* oocytes by changes in cytosolic pH. *Biochemical Journal* 333, 167–174.
- Carpenter, L. & Halestrap, A. P. (1994). The kinetics, substrate and inhibitor specificity of the lactate transporter of Ehrlich-Lettre tumour cells studied with the intracellular pH indicator BCECF. *Biochemical Journal* 304, 751–760.
- Dienel G.A., Hertz L. 2001. Glucose and lactate metabolism during brain activation. *J Neurosci Res* 66: 824–838.
- Dienel GA, Hertz L. Glucose and lactate metabolism during brain activation. *J Neurosci Res*. 2001 Dec 1; 66(5): 824–38.
- Garcia C.K., Brown M.S., Pathak R.K., Goldstein J.L. cDNA cloning of MCT2, a second monocarboxylate transporter expressed in different cells than MCT1. *J Biol Chem*. 1995 Jan 27; 270(4): 1843–9.
- Gladden L.B. Lactate metabolism: a new paradigm of the third millennium. *J. Physiol.* 558.1, 2004, 5–30.
- Gladden, L. B. (1996). Lactate transport and exchange during exercise. In *Handbook of Physiology*, section 12, *Exercise: Regulation and Integration of Multiple Systems*, chap. 14, ed. Rowell, L. & Shepherd, J., pp. 614–648. Oxford University Press, New York.
- Halestrap A.P., Price N.T. 1999. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *Biochem J* 343: 281–299.
- Halestrap A.P., Price N.T. The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *Biochem J*. 1999 Oct 15; 343 Pt 2: 281–99.
- Halestrap, A. P., Wang, X. M., Poole, R. C., Jackson, V. N. & Price, N. T. (1997). Lactate transport in heart in relation to myocardial ischemia. *American Journal of Cardiology* 80, A17–25.
- Hashimoto T., Brooks G.A. Mitochondrial lactate oxidation complex and an adaptive role for lactate production. *Med Sci Sports Exerc*. 2008 Mar; 40(3):486–94.
- Hashimoto T., Hussien R., Cho H.S., Kaufer D., Brooks G.A. Evidence for the mitochondrial lactate oxidation complex in rat neurons: demonstration of an essential component of brain lactate shuttles. *PLoS ONE*. 2008 Aug 13; 3(8): e2915.
- Hertz L, Dienel GA. 2002. Energy metabolism in the brain. *Int Rev Neurobiol* 51: 1–102.
- Juel C., Halestrap A. Lactate transport in skeletal muscle – role and regulation of the monocarboxylate transporter. *The Journal of Physiology* (1999), 517.3, pp. 633–642.
- Juel, C. (1995). Regulation of cellular pH in skeletal muscle fiber types, studied with sarcolemmal giant vesicles obtained from rat muscles. *Biochimica et Biophysica Acta* 1265, 127–132.
- Juel, C. (1997). Lactate-proton co-transport in skeletal muscle. *Physiological Reviews* 77, 321–358.
- Juel, C. (1998). Muscle pH regulation: role of training. *Acta Physiologica Scandinavica* 162, 359–366.
- Magistretti P.J, Pellerin L. Functional brain imaging: role metabolic coupling between astrocytes and neurons. *Rev Med Suisse Romande*. 2000 Sep; 120(9): 739–42.
- McKenna M.C., Tildon J.T., Stevenson J.H., Hopkins I.B., Huang X., Couto R. Lactate transport by cortical synaptosomes from adult rat brain: characterization of kinetics and inhibitor specificity. *Dev Neurosci*. 1998; 20(4–5): 300–309.
- Nehlig A., Coles J.A. Cellular pathways of energy metabolism in the brain: is glucose used by neurons or astrocytes? *Glia*. 2007 Sep; 55(12): 1238–50.
- Nehlig A., Coles J.A. Cellular pathways of energy metabolism in the brain: is glucose used by neurons or astrocytes? *Glia*. 2007 Sep; 55(12): 1238–50.
- Philp A., Macdonald A., Watt. P. Lactate – a signal coordinating cell and system function. *J. Exp. Biology*, 208, 2005. C. 4561–4575.
- Poole, R. C. & Halestrap, A. P. Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. *American Journal of Physiology*, 1993, 264. C. 761–782.
- Poole, R. C., Halestrap, A. P. (1992). Identification and partial purification of the erythrocyte lactate transporter. *Biochemical Journal* 283, 855–862.
- Poole, R. C., Halestrap, A. P. (1993). Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. *American Journal of Physiology* 264, C. 761–782.
- Poole, R. C., Halestrap, A. P. (1994). N-Terminal protein sequence analysis of the rabbit erythrocyte lactate transporter suggests identity with the cloned monocarboxylate transport protein MCT1. *Biochemical Journal* 303, 755–759.
- Poole, R. C., Halestrap, A. P. (1997). Interaction of the erythrocyte lactate transporter (monocarboxylate transporter 1) with an integral 70-kDa membrane glycoprotein of the immunoglobulin superfamily. *Journal of Biological Chemistry* 272, 14624–14628.
- Poole, R. C., Sansom, C. E., Halestrap, A. P. (1996). Studies of the membrane topology of the rat erythrocyte H<sup>+</sup>/lactate cotransporter (MCT1). *Biochemical Journal* 320, 817–824.



Wilson, M. C., Jackson, V. N., Heddle, C., Price, N. T., Pilegaard, H., Juel, C., Bonen, A., Montgomery, I., Hutter, O. F. & Halestrap, A. P. (1998). Lactic acid efflux from white skeletal muscle is catalyzed by the monocarboxylate transporter isoform MCT3. *Journal of Biological Chemistry* 273, 15920–15926.

Yoon, H. & Philp, N. J. (1998). Genomic structure and developmental expression of the chicken monocarboxylate transporter MCT3. *Experimental Eye Research* 67, 417–424.

Yoon, H., Fanelli, A., Grollman, E. F. & Philp, N. J. (1997). Identification of a unique monocarboxylate transporter (MCT3) in retinal pigment epithelium.

*Biochemical and Biophysical Research Communications* 234, 90–94.

Zeuthen T., Hamann S., la Cour M. Cotransport of H<sup>+</sup>, lactate and H<sub>2</sub>O by membrane proteins in retinal pigment epithelium of bullfrog. *J Physiol.* 1996 Nov 15; 497 (Pt 1): 3–17.

Lin R.Y., Vera J.C., Chaganti R.S., Golde D.W. Human monocarboxylate transporter 2 (MCT2) is a high affinity pyruvate transporter. *J Biol Chem.* 1998 Oct 30; 273(44): 28959–65.

Николлс Дж., Мартин Р., Валлас Б., Фукс П. От нейрона к мозгу: Пер. с англ. Издание 2-е. – М.: Изд-во ЛКИ, 2008. – 672 с.

## **MITOCHONDRIAL LACTATE OXIDATION COMPLEX AND ITS ROLE FOR CELL ENERGY HOMEOSTASIS**

**O.V. Meshcheryakova, M.V. Churova, N.N. Nemova**

*Institute of Biology, Karelian Research Centre, Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia,  
e-mail: mesch@krc.karelia.ru*

Recent evidence and new line investigation, now place lactate as an active metabolite, capable of moving between cells, tissues and organs, where it may be oxidized in via mitochondrial lactate oxidation complex. Lactate is oxidized to pyruvate via mitochondrial LDH (mLDH) in association with COX. This endergonic lactate oxidation reaction is coupled to the exergonic

redox change in COX during mitochondrial electron transport. Transport of lactate across the cell and mitochondrial membrane is regulated by different types of monocarboxylate transporters (MCT). Mitochondrial lactate oxidation play an important role for cell energy homeostasis especiality in brain and muscle at different physiology conditions.