

МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

ВЛИЯНИЕ АКТИВАЦИИ NRF2 НА РАБОТУ КОМПЛЕКСА I ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ В КЛЕТКАХ ПЕРВИЧНОЙ НЕЙРОГЛИАЛЬНОЙ КУЛЬТУРЫ С ЭКСПРЕССИЕЙ МУТАНТНОГО БЕЛКА FUS [1-359]

Баженов П.А.^{1,2}, Погонялова М.Ю.¹, Жунусов Н.С.², Винокуров А.Ю.¹

¹*Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева, Орел*

²*Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород*

Аннотация. В работе рассматриваются результаты применения препарата RTA408 для компенсации митохондриальной дисфункции в клетках коры головного мозга мышей модели бокового амиотрофического склероза. Согласно результатам, активация Nrf2 приводит к повышению митохондриального пула НАДН и снижению доли восстановленной формы кофермента, что свидетельствует о нормализации работы комплекса I дыхательной цепи митохондрий.

Ключевые слова: боковой амиотрофический склероз, FUS, митохондриальный НАДН, RTA408, НАДН, АФК.

Боковой амиотрофический склероз (БАС) – патология нервной системы, характеризующаяся гибелью моторных нейронов, а также изменениями в отделах головного мозга. Одним из признаков заболевания выступает нарушение функций белка FUS, что приводит к уменьшению размеров митохондрий в моторных нейронах, дефициту аксонального транспорта и, как результат, усилению фрагментации митохондрий и продукции АФК, а также снижению синтеза АТФ [1, с. 7]. На данный момент не существует эффективного лечения БАС ввиду недостаточного изучения механизмов его развития. Ранее показано, что экспрессия мутантного белка FUS [1-359] ассоциирована с увеличением митохондриального мембранного потенциала и дисфункцией митохондриального комплекса I [2], что требует дальнейшего уточнения, в том числе в целях поиска перспективных лекарственных препаратов.

Объектом исследования являлась первичная нейроглиальная культура коры головного мозга линии мышей, экспрессирующих aberrantную форму белка FUS [1-359]. Клетки коры мутантов характеризуются сниженным уровнем митохондриального НАДН (57,5% от клеток коры дикого типа (ДТ)) и увеличенной долей восстановленной формы кофермента (71,6% при 56,1 % у ДТ). Это свидетельствует об ингибировании комплекса I дыхательной цепи, что приводит также к повышенному уровню образования митохондриальных АФК.

С учетом приведенных данных, в качестве потенциально способного оказывать влияние на метаболизм клеток соединения был рассмотрен препарат RTA408, механизм действия которого заключается в комбинации активации антиоксидантного фактора транскрипции Nrf2 и ингибирования провоспалительного фактора транскрипции NF-κB [3, с. 137].

Инкубирование коры мутантных клеток с препаратом в концентрации 50 нМ в течение 24 ч приводило к повышению митохондриального уровня НАДН (96,4 % от клеток коры ДТ), а также значительному снижению доли восстановленной формы кофермента (55,3 %).

Таким образом, при гиперэкспрессии мутантной формы белка FUS [1-359] применение препарата RTA408, активирующего транскрипционный фактор Nrf2, обеспечивает возврат показателей состояния НАДН к контрольным значениям, что может свидетельствовать о нормализации работы комплекса I дыхательной цепи митохондрий и перспективах применения данной терапевтической стратегии для лечения БАС.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № №075-15-2022-1095.

Литература:

1. Wang H. et al. DNA Damage and Repair Deficiency in ALS/FTD-Associated Neurodegeneration: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Implication // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. FrontiersMedia S.A., 2021. Vol. 14
2. Баженов П.А., Долгих А.И., Винокуров А.Ю. Влияние препарата "Лейтрагин" на митохондриальный метаболизм при гиперэкспрессии мутантной формы белка FUS [1-359] // *Фундаментальная и прикладная медицина: материалы Всероссийской конференции молодых ученых*. Саратов, 29–30 ноября 2022 г. – С. 86-89.
3. Esteras N., Abramov A.Y. Nrf2 as a regulator of mitochondrial function: Energy metabolism and beyond // *Free Radic. Biol. Med.* 2022. Vol. 189. P. 136–153.

EFFECT OF NRF2 ACTIVATION ON MITOCHONDRIAL RESPIRATORY CHAIN COMPLEX I ACTIVITY IN PRIMARY NEUROGLIAL CULTURE CELLS EXPRESSING MUTANT FUS PROTEIN [1-359]

Bazhenov P.A.^{1,2}, Pogonyalova M.Y.¹, Zhunusov N.S.², Vinokurov A.Yu.¹

¹*Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel*

²*Belgorod State National Research University, Belgorod*

Abstract. The paper deals with the results of RTA408 drug application to compensate mitochondrial dysfunction in cortical cells of the mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. According to the results, Nrf2 activation leads to an increase in the mitochondrial pool of NADH and a decrease in the proportion of the reduced form of the coenzyme, indicating normalization of complex I of the mitochondrial respiratory chain.

Keywords: amyotrophic lateral sclerosis, FUS, mitochondrial NADH, RTA408, NADH, ROS.

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a pathology of the nervous system characterized by the death of motor neurons and changes in brain regions. One of the signs of the disease is FUS protein dysfunction, which leads to a decrease in the size of mitochondria in motor neurons, deficiency of axonal transport and, as a result, increased mitochondrial fragmentation and production of ROS, as well as decreased ATP synthesis [1, p. 7]. Now, there is no effective treatment for ALS due to insufficient study of the mechanisms of its development. It was previously shown that the expression of mutant FUS protein [1-359] is associated with an increase in mitochondrial membrane potential and dysfunction of mitochondrial complex I [2], which requires further clarification, including for the purpose of searching for promising drugs.

The object of the study was primary neuroglial cortical culture of a line of mice expressing an aberrant form of FUS protein [1-359]. Mutant cortical cells are characterized by a reduced level of mitochondrial NADH (57.5% of wild-type (WT) cortical cells) and an increased proportion of the reduced form of the coenzyme (71.6% with 56.1% in WT). This indicates inhibition of complex I of the respiratory chain, which also leads to an increased level of mitochondrial ROS formation.

Considering the above data, we considered RTA408 as a compound potentially capable of influencing cell metabolism. Its mechanism of action consists in the combination of activation of the antioxidant transcription factor Nrf2 and inhibition of the proinflammatory transcription factor NF- κ B [3, p. 137].

Incubation of the cortex of mutant cells with the drug at a concentration of 50 nM for 24 h resulted in an increase in the mitochondrial level of NADH (96.4 % of DT cortical cells), as well as a significant decrease in the proportion of the reduced form of the coenzyme (55.3 %).

Thus, in case of hyperexpression of the mutant form of FUS protein [1-359], the use of RTA408, which activates the transcription factor Nrf2, ensures the return of NADH state indices to control values, which may indicate the normalization of complex I of the mitochondrial respiratory chain and the prospects for the application of this therapeutic strategy for the treatment of ALS.

The work was supported by the grant of the Government of the Russian Federation № 075-15-2022-1095.

References

1. Wang H. et al. DNA Damage and Repair Deficiency in ALS/FTD-Associated Neurodegeneration: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Implication // *Frontiers in Molecular Neuroscience*. FrontiersMedia S.A., 2021. Vol. 14
2. Баженов П.А., Долгих А.И., Винокуров А.Ю. Влияние препарата "Лейтрагин" на митохондриальный метаболизм при гиперэкспрессии мутантной формы белка FUS [1-359] // *Фундаментальная и прикладная медицина: материалы Всероссийской конференции молодых ученых*. Саратов, 29–30 ноября 2022 г. – С. 86-89.
3. Esteras N., Abramov A.Y. Nrf2 as a regulator of mitochondrial function: Energy metabolism and beyond // *Free Radic. Biol. Med.* 2022. Vol. 189. P. 136–153.