

УДК 57.085.23

**УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ АБЕРРАНТНОГО ГЕНА FUS[1-359] ВЛИЯЕТ НА
ВЫЖИВАЕМОСТЬ КЛЕТОК ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ БЛОКИРОВАНИИ
СИНТЕЗА АТФ**

Шитикова Е.Ю. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии НТЦ биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия),

Долгих А.И. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии НТЦ биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия),

Баженов П.А. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия)

Научный руководитель – канд. техн. наук. Винокуров А.Ю. (Лаборатория клеточной физиологии и патологии НТЦ биомедицинской фотоники, Орловский государственный университет имени И. С. Тургенева, Орел, Россия)

Введение. Боковой амиотрофический склероз (БАС) характеризуется дегенерацией верхних и нижних двигательных нейронов, что приводит к мышечной дистрофии и в конечном итоге вызывает приводящий к смерти паралич [1]. По данным мировой статистики, средняя заболеваемость БАС составляет от 1 до 3 новых случаев на 100 тыс. населения в год [2]. Это заболевание является наследственным в 5-10% случаев. С семейной формой данного заболевания ассоциировано более 20 генов, из которых на четыре приходится большинство случаев: SOD1, C9orf72, FUS и TARDBP [3].

Лобно-височная деменция (ЛВД) относится к группе нейродегенеративных заболеваний (НДЗ), характеризующихся деграцией лобной и височной долей головного мозга в раннем возрасте, и сопровождается развитием нарушений когнитивных функций. Расстройство является третьей наиболее распространенной формой деменции во всех возрастных группах после болезни Альцгеймера и является ведущим типом деменции с ранним началом [4]. Нейропатология ЛВД классифицируется в соответствии с белком, который откладывается в центральной нервной системе, TDP-43, Tau, или FUS. Развитие болезни, связанное с отложением белка FUS в цитоплазме мотонейронов составляет около 10 % всех случаев ЛВД [5]. БАС и ЛВД по данным исследователей зачастую развиваются вместе у одних и тех же пациентов и относятся к одной группе заболеваний [6].

Важная роль в патогенезе НДЗ, ассоциированных с FUS, отводится нарушениям работы митохондрий [3]. Поскольку они являются главным источником АТФ в клетках головного мозга, изменения в образовании и потреблении данного макроэрга представляются наиболее вероятными причинами гибели клеток. Однако в условиях тех или иных патологий механизмы развития нарушений могут различаться. Большой интерес в этом плане представляют заболеваний различного фенотипа, связанные с одинаковыми мутациями, в частности, БАС и ЛВД, которые развиваются на фоне нарушений гена белка FUS.

Основная часть. Объектом исследования являлись первичные нейроглиальные культуры, которые были получены от трансгенных линий мышей с различным уровнем экспрессии аберрантной формы человеческого белка FUS [1-359]. При высоком уровне экспрессии развивается фенотип БАС, а при низком – ЛВД [7]. В качестве критерия оценки влияния накопления мутантного белка на энергетике клеток, использовали время до потери ими способности поддерживать градиент концентрации ионов кальция относительно цитоплазматической мембраны («время коллапса клеток»). Исследования проводили с помощью флуоресцентного зонда mag-Fura-2 AM, отношение интенсивности флуоресценции связанной с магнием или кальцием формы к свободной форме резко возрастает при коллапсе клеток. По этому показателю клетки коры мышинной модели ЛВД имеют более долгое время жизни в сравнении с контролем (астроциты коры – 2,2 ч и 3,5 ч, нейроны коры – 1,6 ч и 3,5 ч для ДТ и ЛВД соответственно, для клеток среднего мозга: астроциты – 2,3 ч и 3 ч, а нейроны 2,2 и 4,2 ч. для ДТ и ЛВД соответственно). В случае мышинной модели БАС требовалось меньше времени для полного исчерпания запасов АТФ в клетках среднего мозга (астроциты 2,2 ч, нейроны 2,1 ч, при значениях в клетках ДТ – 3 ч и 4,2 ч). Это может быть связано с

различиями как в скорости образования и, соответственно, внутриклеточных запасах АТФ, так и расходования макроэрга в ассоциированных с мутантным белком FUS процессах. В клетках коры данной модели клетки достигают коллапса позднее, чем клетки контроля (астроциты – 2,9 ч., нейроны – 2,5 ч., при значениях в коре ДТ 2,2 ч и 1,6 ч)

Поскольку основная часть АТФ клеток головного мозга синтезируется в результате окислительного фосфорилирования, нами был выполнен анализ митохондриального мембранного потенциала $\Delta\Psi_m$, позволяющего выявить возможные нарушения, приводящие к такому результату. Для этого использовали зонд тетраметилродамин (TMRM), интенсивность флуоресценции которого коррелирует с величиной $\Delta\Psi_m$. По полученным данным можно сделать вывод, что клетки коры мозга у мутантных мышей с фенотипом БАС характеризуются увеличенным, а клетки среднего мозга – сниженным $\Delta\Psi_m$ относительно контроля. Для клеток, полученных от мышей с фенотипом ЛВД было характерно снижение данного параметра в коре и среднем мозге. Это говорит о возможных нарушениях митохондриального метаболизма, которые могут быть связаны с изменениями работы участвующих в формировании $\Delta\Psi_m$ комплексов ЭТЦ. Как показывают дополнительные эксперименты с применением олигомицина и ротенона, наиболее вероятным объяснением наблюдаемых в случае клеток моделей БАС изменений является дисфункция комплекса I дыхательной цепи, играющего ключевую роль донора электронов, движение которых формирует энергию градиента протонов водорода и, соответственно, обеспечивает синтеза АТФ. В то же время для клеток с фенотипом ЛВД таких изменений выявлено не было, что позволяет предположить сравнительно нормальный уровень содержания АТФ при замедлении его потребления. Однако данное предположение требует дальнейших экспериментальных исследований.

Выводы. Клетки среднего мозга животных моделей БАС имеют наименьшую жизнеспособность в условиях блокирования синтеза АТФ. Вероятно, это происходит на фоне дисфункции I комплекса ЭТЦ при одновременном развитии активно потребляющих макроэрг процессов. Для моделей с низкой экспрессией мутантного гена наблюдается повышенная продолжительность жизни клеток коры и среднего мозга относительно дикого типа.

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

Список использованных источников:

1. Hardiman O. et al. Amyotrophic lateral sclerosis //Nature reviews Disease primers. – 2017. – V. 3. – №. 1. – P. 1-19.
2. Couratier P. et al. Epidemiology of amyotrophic lateral sclerosis: a review of literature //Revue neurologique. – 2016. – V. 172. – №. 1. – P 37-45.т
3. Smith E. F., Shaw P. J., De Vos K. J. The role of mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis //Neuroscience letters. – 2019. – V. 710. – P. 132933.
4. Rossor M. N. et al. The diagnosis of young-onset dementia //The Lancet Neurology. – 2010. – V. 9. – №. 8. – P. 793-806.
5. Mackenzie I. R. A., Rademakers R., Neumann M. TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia //The Lancet Neurology. – 2010. – V. 9. – №. 10. – P. 995-1007
6. Lomen-Hoerth C., Anderson T., Miller B. The overlap of amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia //Neurology. – 2002. – V. 59. – №. 7. – P. 1077-1079.
7. Дейкин А. В. и др. Модель бокового амиотрофического склероза на основе линии трансгенных мышей, экспрессирующих мутантную форму FUS белка человека //Журнал неврологии и психиатрии им. СС Корсакова. – 2014. – Т. 114. – №. 8. – С. 62-69.

Шитикова Е.Ю. (автор)

Подпись

Винокуров А.Ю. (научный руководитель)

Подпись