DOI: https://doi.org/10.17816/gc623468

Хемогенетически индуцированный окислительный стресс нейронов влияет на синаптическую пластичность

Д.И. Мальцев[1, 2 *], А.Л. Калиниченко[1, 3], Д. Джэппи[2, 4], М.А. Солотенков[3], Г.М. Солюс[1], Л.Ф. Мухаметшина[1, 3], Е.А. Елесина[3], Р.А. Соколов[5, 6], А.С. Цопина[3], И.В. Федотов[3, 7], А.А. Мощенко[2], А.Б. Федотов[3, 7], В.А. Шайдуров[2, 8], А.В. Розов[2], О.В. Подгорный[1, 2, 5], В.В. Белоусов[1, 2, 5]

[1] Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Российская Федерация;

[2] Институт фундаментальной неврологии, Федеральный центр исследования мозга и нейротехнологий, Федеральное медико-биологическое агентство, Москва, Российская Федерация;

[3] Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация;

[4] Казанский федеральный университет, Казань, Российская Федерация;

[5] Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация;

[6] Институт биологии и биомедицины, Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Российская Федерация;

[7] Российский квантовый центр «Сколково», Москва, Российская Федерация;

[8] Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии Российской академии наук, Москва, Российская Федерация

АННОТАЦИЯ

Гиперпродукция активных форм кислорода и окислительное повреждение клеток сопровождают большинство патологий головного мозга [1, 2]. В настоящее время предполагается, что дисрегуляция окислительно-восстановительного гомеостаза в стареющем мозге лежит в основе нарушения синаптической передачи и пластичности, что приводит к снижению вычислительной способности нейронов и, как следствие, к дефициту обучения и памяти. Однако изучение вклада окислительного стресса в развитие заболеваний мозга, таких как возрастная деменция и болезнь Альцгеймера, затруднено из-за отсутствия подходов к моделированию изолированного окислительного повреждения отдельных типов клеток [3]. В нашей работе мы применили хемогенетический инструмент на основе оксидазы D-аминокислот из дрожжей (DAAO) для генерации внутринейрональной перекиси водорода [4]. Для валидации этого подхода мы вначале подтвердили генерацию H_2O_2 в нейронах, в которые доставили DAAO с помощью аденоассоциированных вирусных векторов, на первичной клеточной культуре эмбрионального мозга и на пережи-вающих срезах головного мозга мышей с помощью генетически кодируемого флуоресцентного биосенсора HyPer7 [5]. Изменения его флуоресценции при добавлении D-норвалина, являющегося субстратом для DAAO, показали хемогенетически индуцированную продукцию H_2O_2 в целевых нейронах. Затем с помощью методов электрофизиологии мы показали на уровне отдельных клеток, что хемогенетически вызванный окислительный стресс не меняет базальную синаптическую передачу и вероятность высвобождения нейротрансмиттера из пресинаптических окончаний, однако снижает долговременную потенциацию (ДВП).

Так как астроциты могут метаболизировать д-аминокислоты, делая неэффективным предлагаемый подход в *in vivo* экспериментах, нам было необходимо проверить данный инструмент в живом организме. Для того чтобы валидировать этот хемогенетический инструмент *in vivo*, мы собрали оптическую систему для возбуждения и детекции сигнала биосенсора HyPer7 через оптическое волокно, имплантированное в головной мозг мыши. Полученные данные подтверждают генерацию H_2O_2 в нейронах после внутрибрюшинного введения D-норвалина, что позволяет нам использовать этот инструмент для *in vivo* исследований. Таким образом, наши результаты показывают, что хемогенетический инструмент на основе DAAO в сочетании с электрофизиологическими записями может быть использован для выяснения ряда нерешенных вопросов, касающихся роли АФК-зависимой сигнализации в нормальном функционировании мозга и вклада окислительного стресса в патогенез когнитивного старения и ранних стадий нейродегенерации. Предлагаемый подход полезен для идентификации ранних маркеров окислительного стресса

Рукопись получена: 13.05.2023 **Рукопись одобрена:** 26.11.2023 **Опубликована online:** 20.01.2024

Article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License
© Eco-Vector, 2023

нейронов и может быть использован для скрининга потенциальных антиоксидантов, эффективных против окислительного повреждения нейронов.

Ключевые слова: окислительный стресс; синаптическая пластичность; старение мозга; нейродегенерация; долговременная потенциация; пероксид водорода; оксидаза Д-аминокислот.

Как цитировать:
Мальцев Д.И., Калиниченко А.Л., Джэппи Д., Солотенков М.А., Солюс Г.М., Мухаметшина Л.Ф., Елесина Е.А., Соколов Р.А., Цопина А.С., Федотов И.В., Мощенко А.А., Федотов А.Б., Шайдуров В.А., Розов А.В., Подгорный О.В., Белоусов В.В. Хемогенетически индуцированный окислительный стресс нейронов влияет на синаптическую пластичность // Гены и клетки. 2023. Т. 18, № 4. С. 512–515. DOI: https://doi.org/10.17816/gc623468

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Эксперименты по электрофизиологии поддержаны грантом РНФ № 22-15-00293; *in vivo* валидации хемогенетического инструмента на основе DAAO поддержаны грантом РНФ № 23-75-30023; работы по разработке световодных зондов поддержаны грантом РНФ № 22-22-00590.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sies H., Berndt C., Jones D.P. Oxidative Stress // Annual Review of Biochemistry. 2017. Vol. 86. P. 715–748. doi: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037
2. Cobley J.N., Fiorello M.L., Bailey D.M. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress // Redox Biology. 2018. Vol. 15. P. 490–503. doi: 10.1016/j.redox.2018.01.008
3. Kumar A., Yegla B., Foster T.C. Redox Signaling in Neurotransmission and Cognition During Aging // Antioxidants & Redox Signaling. 2018. Vol. 28, N 18. P. 1724–1745. doi: 10.1089/ars.2017.7111
4. Pollegioni L., Langkau B., Tischer W., et al. Kinetic mechanism of D-amino acid oxidases from Rhodotorula gracilis and Trigonopsis variabilis // Journal of Biological Chemistry. 1993. Vol. 268, N 19. P. 13850–13857. doi: 10.1016/S0021-9258(19)85181-5
5. Pak V.V., Ezeriņa D., Lyublinskaya O.G., et al. Ultrasensitive Genetically Encoded Indicator for Hydrogen Peroxide Identifies Roles for the Oxidant in Cell Migration and Mitochondrial Function // Cell Metabolism. 2020. Vol. 31, N 3. P. 642–653.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2020.02.003

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

* Д.И. Мальцев; адрес: Российская Федерация, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10; e-mail: maltsev.d@fccps.ru

ECO•VECTOR
Article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License
© Eco-Vector, 2023

DOI: https://doi.org/10.17816/gc623468

Chemogenetic emulation of intraneuronal oxidative stress affects synaptic plasticity

D.I. Maltsev[1, 2]*, A.L. Kalinichenko[1, 3], D. Jappy[2, 4], M.A. Solotenkov[3], G.M. Solius[1], L.F. Mukhametshina[1, 3], E.A. Elesina[3], R.A. Sokolov[5, 6], A.S. Tsopina[3], I.V. Fedotov[3, 7], A.A. Moshchenko[2], A.B. Fedotov[3, 7], V.A. Shaydurov[2, 8], A.V. Rozov[2], O.V. Podgorny[1, 2, 5], V.V. Belousov[1, 2, 5]

[1] Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

[2] Institute of Fundamental Neurology, Federal Center of Brain Research and Neurotechnologies, Federal Medical Biological Agency, Moscow, Russian Federation;

[3] Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation;

[4] Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation;

[5] Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

[6] Institute of Biology and Biomedicine, Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russian Federation;

[7] Russian Quantum Center “Skolkovo”, Moscow, Russian Federation;

[8] Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

ABSTRACT

Overproduction of reactive oxygen species (ROS) and oxidative cell damage are commonly associated with most brain pathologies [1, 2]. Dysregulation of redox homeostasis in the aging brain is thought to be responsible for impaired synaptic transmission and plasticity, leading to reduced neuronal computational capacity and learning and memory deficits. Studying the contribution of oxidative stress to the development of diseases, such as age-related dementia and Alzheimer’s disease, is complex due to the lack of methods for modeling isolated oxidative damage in individual cell types [3]. We introduce a chemogenetic approach utilizing D-amino acid oxidase (DAAO) from yeast to produce hydrogen peroxide intraneuronally, which is one of the most stable ROS [4]. H_2O_2 generation was evaluated in primary cultured neurons and acute mouse brain slices through the utilization of a genetically encoded fluorescent biosensor, HyPer7, to validate the methodology [5]. The changes in the fluorescence signal of HyPer7 after treating neurons that expressed DAAO with D-Norvaline (D-Nva), a substrate for DAAO, confirmed the targeted production of H_2O_2 through chemogenetics. Using electrophysiological recordings in acute brain slices, we demonstrated that intraneuronal oxidative stress induced by chemogenetics did not affect basal synaptic transmission and the probability of neurotransmitter release from presynaptic terminals. However, it diminished long-term potentiation (LTP) at the single-cell level.

Astrocytes have the ability to metabolize d-amino acids, rendering the proposed approach ineffective *in vivo* experiments. Consequently, *in vivo* testing of the tool was necessary for validation. To achieve this, an optical setup for exciting and detecting the HyPer7 signal was developed and implanted into the mouse brain via optical fibers. By using this approach, we were able to demonstrate the generation of H_2O_2 in DAAO-expressing neurons *in vivo*, upon intraperitoneal administration of D-amino acids. The results demonstrate that using a DAAO-based chemogenetic tool, along with electrophysiological recordings, clarifies numerous unanswered queries regarding the part of ROS-dependent signaling in typical brain activities and the impact of oxidative stress on the development of cognitive aging and preliminary neurodegenerative stages. The suggested method is valuable for detecting initial indicators of neuronal oxidative stress. Additionally, it can be used for evaluating probable antioxidants that can effectively combat neuronal oxidative harm.

Keywords: oxidative stress; synaptic plasticity; brain aging; neurodegeneration; long-term potentiation; hydrogen peroxide; D-amino acid oxidase.

To cite this article:

Maltsev DI, Kalinichenko AL, Jappy D, Solotenkov MA, Solius GM, Mukhametshina LF, Elesina EA, Sokolov RA, Tsopina AS, Fedotov IV, Moshchenko AA, Fedotov AB, Shaydurov VA, Rozov AV, Podgorny OV, Belousov VV. Chemogenetic emulation of intraneuronal oxidative stress affects synaptic plasticity. *Genes & Cells.* 2023;18(4):512–515. DOI: https://doi.org/10.17816/gc623468

Received: 13.05.2023 **Accepted:** 26.11.2023 **Published online:** 20.01.2024

ECO•VECTOR

Article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License
© Eco-Vector, 2023

ADDITIONAL INFORMATION

Funding sources. Electrophysiological recordings were funded by the RSF grant No. 22-15-00293; ***in vivo*** validation of the DAAO-based optogenetic tool was funded by the RSF grant No. 23-75-30023; fiber probes development was funded by RSF grant No. 22-22-00590.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, and final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCES

1. Sies H, Berndt C, Jones DP. Oxidative Stress. *Annual Review of Biochemistry.* 2017;86:715–748. doi: 10.1146/annurev-biochem-061516-045037

2. Cobley JN, Fiorello ML, Bailey DM. 13 reasons why the brain is susceptible to oxidative stress. *Redox Biology.* 2018;15:490–503. doi: 10.1016/j.redox.2018.01.008

3. Kumar A, Yegla B, Foster TC. Redox Signaling in Neurotransmission and Cognition During Aging. *Antioxidants & Redox Signaling.* 2018;28(18):1724–1745. doi: 10.1089/ars.2017.7111

4. Pollegioni L, Langkau B, Tischer W, et al. Kinetic mechanism of D-amino acid oxidases from Rhodotorula gracilis and Trigonopsis variabilis. *Journal of Biological Chemistry.* 1993;268(19):13850–13857. doi: 10.1016/S0021-9258(19)85181-5

5. Pak VV, Ezeriņa D, Lyublinskaya OG, et al. Ultrasensitive Genetically Encoded Indicator for Hydrogen Peroxide Identifies Roles for the Oxidant in Cell Migration and Mitochondrial Function. *Cell Metabolism.* 2020;31(3):642–653.e6. doi: 10.1016/j.cmet.2020.02.003

AUTHORS' CONTACT INFO

* D.I. Maltsev; address: 16/10 Miklukho-Maklaya street, 117997 Moscow, Russian Federation; e-mail: maltsev.d@fccps.ru

Article can be used under the CC BY-NC-ND 4.0 International License
© Eco-Vector, 2023