

<https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i4.s241>

Влияние производного халкона на изменение NOX4-зависимого митохондриального биогенеза мозговой ткани у крыс с фокальной ишемией головного мозга

Д.И. Поздняков

Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета; Пятигорский ГНИИК ФГБУ ФНКЦ МРИК ФМБА России, Москва, Россия

Корреспонденция:

Поздняков Дмитрий Игоревич, Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета, Россия, 357532, Ставропольский край, г. Пятигорск, пр. Калинина, д. 11 E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Конфликт интересов:

авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соответствие принципам этики:

Соответствие всем этическим требованиям проведенной экспериментальной работы подтверждено заключением независимого этического комитета Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО Волгоградского государственного медицинского университета (Россия, Ставропольский край, г.Пятигорск, пр. Калинина, 11), протокол №8 от 07.07.2023 г. Условия содержания животных и работы с ними соответствовали принципам Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным, директиве Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22 сентября 2010 г. о защите животных, используемых для научных целей, ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики», утвержденному Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии № 1700-ст от 20 ноября 2014 г.

Поступила: 16.10.2024

Поступила после рецензирования: 25.11.2024

Принята: 30.12.2024

Copyright: © 2024 Автор



АННОТАЦИЯ

Актуальность. НАДФ-оксидаза 4 или NOX4 — фермент группы оксидаз, играющий значимую роль в патогенезе ишемического инсульта. Прежде всего, NOX4 опосредует активацию окислительного стресса и митохондриальной дисфункции, что делает ее перспективной фармакотерапевтической мишенью.

Цель исследования. Оценить влияние применения 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-она на изменение NOX4-зависимого митохондриального биогенеза у крыс с фокальной ишемией.

Материалы и методы. Фокальную ишемию головного мозга моделировали путём необратимой правосторонней окклюзии средней мозговой артерии у крыс-самцов Wistar. Анализируемое соединение — 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он и референт — этилметилгидроксипиридина сукцинат вводили перорально в дозах 50 мг/кг и 100 мг/кг соответственно на протяжении 3-х суток с момента моделирования ишемии. По истечении указанного времени у крыс оценивали изменение величины зоны некроза. В митохондриальной фракции определяли изменение активности ферментов-биомаркеров митохондриального биогенеза — сукцинатдегидрогеназы и цитохром-с-оксидазы, а также содержание NOX4.

Результаты. Проведенное исследование показало, что на фоне введения животным этилметилгидроксипиридина сукцината и 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-она наблюдалось снижение содержания NOX4 на 41,9 % ($p < 0,05$) и 42,8 % ($p < 0,05$) соответственно, что сопровождалось повышением активности сукцинатдегидрогеназы на 131,8% ($p < 0,05$) и 137,5% ($p < 0,05$) соответственно, а также цитохром-с-оксидазы — на 83,1% ($p < 0,05$) и 79,0% ($p < 0,05$) соответственно. Стоит отметить, что при применении этилметилгидроксипиридина сукцината и 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-она зона некроза головного мозга у крыс уменьшилась на 17,6% ($p < 0,05$) и 15,2% ($p < 0,05$) соответственно.

Заключение. Показано, что пероральное введение 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-она животным с фокальной ишемией приводит к уменьшению зоны некроза головного мозга, в основе чего может лежать подавление NOX4 и, соответственно, улучшение митохондриальной функции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

ишемический инсульт, митохондриальный биогенез, сукцинатдегидрогеназа, цитохром-с-оксидаза, производные халкона

Для цитирования: Поздняков, Д. И.(2024). Влияние производного халкона на изменение NOX4-зависимого митохондриального биогенеза мозговой ткани у крыс с фокальной ишемией головного мозга *Health, Food & Biotechnology*, 6(4), 36–44. <https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i4.s241>

<https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i4.s241>

Effect of Chalcone Derivative on Changes in Nox4-Dependent Mitochondrial Biogenesis of Brain Tissue in Rats with Focal Cerebral Ischemia

Dmitry I. Pozdnyakov

Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute – branch of the Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, Russia; Pyatigorsk SRIB FSCC MRB FMBA of Russia, Pyatigorsk, Russia.

Correspondence:

Dmitry I. Pozdnyakov,
Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - branch of the Volgograd State Medical University, Russia, 357532, Pyatigorsk, Kalinin Ave., 11
E-mail: pozdniackow.dmitry@yandex.ru

Declaration of competing interest:
none declared.

Compliance with the principles of ethics:

Compliance with all ethical requirements of the experimental work was confirmed by the conclusion of the independent ethics committee of the Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - branch of the Volgograd State Medical University (11, Kalinina Ave., Pyatigorsk, Stavropol Krai, Russia), protocol No. 8 dated 07.07.2023. The conditions for keeping and working with animals were consistent with the principles of the Helsinki Declaration on the Humane Treatment of Animals, Directive 2010/63/EC of the European Parliament and of the Council of the European Union of September 22, 2010. on the protection of animals used for scientific purposes, GOST 33044-2014 "Principles of good Laboratory Practice", approved by Order of the Federal Agency for Technical Regulation and Metrology No. 1700-st dated November 20, 2014..

Received: 16.10.2024

Received in revised form: 25.11.2024

Accepted: 30.12.2024

Copyright: © 2024 The Author



ABSTRACT

Introduction. NADP-oxidase 4 or NOX4 is an enzyme of the oxidase group that plays a significant role in the pathogenesis of ischemic stroke. First of all, NOX4 mediates the activation of oxidative stress and mitochondrial dysfunction, which makes it a promising pharmacotherapeutic target.

Purpose. To evaluate the effect of the administration of 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-one on the change in NOX4-dependent mitochondrial biogenesis in rats with focal ischemia.

Materials and Methods. Focal cerebral ischemia was modeled by irreversible right-sided occlusion of the middle cerebral artery in male Wistar rats. The analyzed compound – 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-one and the reference – ethylmethylhydroxypyridine succinate were administered orally at doses of 50 mg/kg and 100 mg/kg, respectively, on for 3 days from the moment of ischemia modeling. After the specified time, a change in the size of the necrosis zone was assessed in rats, a change in the activity of enzymes- biomarkers of mitochondrial biogenesis – succinate dehydrogenase and cytochrome-c-oxidase, as well as the NOX4 content were determined in the mitochondrial fraction.

Results. The study showed that against the background of administration of ethylmethylhydroxypyridine succinate and 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-one to animals, a decrease in NOX4 content by 41.9 % ($p < 0.05$) and 42.8 % ($p < 0.05$) respectively was observed, which was accompanied by an increase in the activity of succinate dehydrogenase by 131.8 % ($p < 0.05$) and 137.5 % ($p < 0.05$), respectively, as well as cytochrome-c-oxidase by 83.1 % ($p < 0.05$) and 79.0 % ($p < 0.05$), respectively. It is worth noting that when using ethylmethylhydroxypyridine succinate and 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-oh, the brain necrosis zone in rats decreased by 17.6 % ($p < 0.05$) and 15.2 % ($p < 0.05$), respectively.

Conclusion. It has been shown that oral administration of 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-one to animals with focal ischemia leads to a decrease in the area of brain necrosis, which may be based on suppression NOX4 and, accordingly, improved mitochondrial function.

KEYWORDS

ischemic stroke, mitochondrial biogenesis, succinate dehydrogenases, cytochrome-c-oxidase, chalcone derivatives

To cite: Pozdnyakov, D. I. (2024). Effect of chalcone derivative on the change in NOX4-dependent mitochondrial biogenesis of brain tissue in rats with focal cerebral ischemia *Health, Food & Biotechnology*, 6(4), 36-44. <https://doi.org/10.36107/hfb.2024.i4.s241>

ВВЕДЕНИЕ

Цереброваскулярная патология занимает одно из ведущих мест в структуре заболеваемости и смертности населения. По данным Всемирной Организации Здравоохранения нарушение мозговой гемодинамики и, в частности, ишемический инсульт, занимают второе место в списке десяти главных причин смертности, уступая только ишемической болезни сердца и ее осложнениям в виде инфаркта миокарда (Feske, 2021). В связи со значимой медицинской, экономической и социальной ролью ишемического инсульта поиск новых тактик лечения и, соответственно лекарственных препаратов, предназначенных для терапии данного заболевания, ведется постоянно. При этом, наряду с современными тромболитическими препаратами обращает на себя внимание концепция использования нейропротекторных средств, действие которых сосредоточено на коррекции основных патофизиологических механизмов развития ишемического инсульта (Paul & Candelario-Jalil, 2021). Установлено, что патогенез ишемического инсульта носит комплексный характер и состоит из каскада взаимосвязанных процессов, приводящих к гибели нейронов ишемической пенумбры. Среди таких патофизиологических механизмов можно выделить: эксайтотоксичность, опосредованную активацией NMDA2A рецепторов глутаминовой кислоты; апоптоз; нейровоспаление; окислительный стресс; митохондриальную дисфункцию (Zhao et al., 2021). При этом, как отмечает Haupt et al. (2023) практически любой из данных патогенетических путей может подвергаться целенаправленному фармакологическому воздействию, но предпочтение при разработке новых фармакотерапевтических таргетов отдается митохондриальной дисфункции и окислительному стрессу.

Митохондрии являются одними из главных источников активных форм кислорода (АФК) в клетке и при наличии дефицита кислорода и субстратов окисления процесс генерации АФК многократно усиливается, что является триггерным фактором для окислительного стресса. В тоже время альтернативно митохондриальному метаболизму источником АФК могут служить ферменты группы НАДФ-оксидаз, например, НАДФ-оксидаза 4 (NOX4).

Изофермент NOX4 впервые был идентифицирован в почках и играет значимую роль в развитии многих заболеваний. Например, было обнаружено, что NOX4 за счет активации гликолиза, действует как онкоген при немелкоклеточном раке легких (Zeng et al. 2016). Кроме того, было показано, что NOX4 высоко экспрессируется в кровеносных сосудах головного мозга и может способствовать образованию АФК и апоптозу нейронов в условиях церебрального повреждения (Xu et al., 2019).

Помимо интенсификации апоптоза и окислительного стресса повышенная активность NOX4 способствует повреждению плотных контактов гематоэнцефалического барьера, усиливая отек головного мозга (Palomino-Antolín et al., 2023). Также NOX4 в «петле положительной обратной связи» ухудшает функциональную активность митохондрий, выражаемое в снижении процесса митохондриального биогенеза (Bernard et al., 2017). Таким образом, высокая значимость NOX4 в патогенезе ишемического инсульта делает данный изофермент перспективной фармакологической мишенью, на изучении чего был сосредоточен ряд исследований. Dai et al. (2018) продемонстрировали нейропротекторный эффект кверцетина, который реализовывался посредством блокады NOX4-зависимых механизмов окислительного повреждения. Аналогичные результаты были получены для гинсенозида (Chen et al., 2015) и бетулиновой кислоты (Lu et al., 2017). При этом, следует отметить, что в описанных случаях для гинсенозида и бетулиновой кислоты блокада NOX4 сопровождалась снижением интенсивности некротических процессов в ткани головного мозга. Наряду с перечисленными выше соединениями перспективными блокаторами NOX4 могут являться производные хромона, демонстрирующие высокие антиоксидантные свойства Воронков и соавт. (2019) и к числу которых можно отнести 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он. Цель исследования: оценить влияние применения 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-она на изменение NOX4-зависимого митохондриального биогенеза у крыс с фокальной ишемией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Данное исследование выполнено на половозрелых белых крысах самках Wistar весом 220 ± 10 % г. Стоковая выборка для проведения эксперимента составляла 80 особей, которые в дальнейшем распределялись по 20 крыс на три эквивалентные экспериментальные группы. После получения (источник получения — питомник лабораторных животных «Рапполово») и до начала исследования животных размещали в карантинном отделении вивария Пятигорского медико-фармацевтического института по 5 особей в полипропиленовых клетках. Режим содержания: температура воздуха — 22 ± 10 °C, влажность воздуха — 65 ± 10 %, световой цикл — 12 часов. В ходе непосредственного эксперимента животные содержались в аналогичных условиях. Операционные процедуры и забор биоматериала выполнены под анестезией (внутрибрюшинное введение хлоралгидрата в дозе 350 мг/кг). Эвтаназию крыс осуществляли путем декапитации под анестезией. Исследование было одобрено Локальным этическим комитетом ПМФИ (протокол №8

от 07.07.2023). Исследование соответствовало положениям Директивы ЕС 2010/63¹ и принципам ARRIVE 2.0².

Дизайн исследования

Фокальную ишемию моделировали путем необратимой правосторонней термокоагуляции средней мозговой артерии, согласно методу Tamura et al. (1981). В ходе исследования были сформированы 4 экспериментальные группы животных ($n = 20$ каждая): ЛО — ложнооперированные животные; НК — негативный контроль (крысы с фокальной ишемией, но лишённые фармакологической поддержки); ЭГМПС — группа животных с ишемией, получающая референт — этилметилгидроксипиридина сукцинат («Мексидол», Фармасофт, Россия) в дозе 100 мг/кг; 3FC12 — группа крыс с ишемией, которой вводили анализируемое соединение 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4Н-1-бензопиран-4-он в дозе 50 мг/кг (Pozdnyakov et al., 2022). Введение референта и анализируемого соединения осуществляли перорально, после моделирования ишемии, затем однократно в день на протяжении 72-х часов.

Подготовка биоматериала для анализа

Крыс декапитировали под анестезией, извлекали головной мозг и у 10 животных из группы трифенилтетразолиевым методом оценивали изменение зоны церебрального некроза. У 10 оставшихся крыс головной мозг гомогенизировали в буферном растворе с pH 7,2, состоящим из 1 ммоль/л ЭГТА, 215 ммоль/л маннита, 75 ммоль/л сахарозы, 20 ммоль/л HEPES и 0,1 % раствора бычьего сывороточного альбумина. Из полученного гомогената готовили митохондриальную фракцию, путем центрифугирования в градиенте перколл. Первичный гомогенат центрифугировали при ускорении 1100g на протяжении 2-х минут. Полученный супернатант разделяли на 2 аликвоты. Первую переносили в пробирки Эппендорф и наслаивали 10 %-раствор перколл. Полученную смесь повторно центрифугировали при ускорении 18000g в течение 10 минут (Поздняков, 2023). Декантант отбрасывали, осадок ресуспендировали в 1 мл изолирующего буфера и центрифугировали в течение 5 минут при 10 000 g с получением митохондриальной фракции (Pozdnyakov, D., et al. 2020).

Определение активности сукцинатдегидрогеназы, цитохром-с-оксидазы и концентрации NOX4

В митохондриальной фракции оценивали изменение активности ферментов сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и цитохром-с-оксидазы (ЦСО), а также определяли содержание NOX4. Активность ЦСО определяли по изменению оптической плотности среды реакции окисления цитохрома С (II) в присутствии калия цианида при 500 нм (Li et al., 2007). Активность СДГ оценивали спектрофотометрически в реакции сукцинат-зависимого восстановления дихлорфенолиндифенола при добавлении в анализируемую среду ротенона при 600 нм. (Wang et al., 2017). Активность ферментов пересчитывали на содержание белка в образце, которое определяли методом Бредфорда. Концентрацию NOX4 определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа с применением видоспецифичных реактивов производства Cloud Clone. Анализ выполнялся в соответствии с рекомендациями производителя. Аналитический сигнал считывали на микропланшетом ридере Infinite F50, производства Tecan (Поздняков, 2022).

Статистический анализ

Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики. В ходе статистического анализа использовали пакет прикладных программ StatPlus 7.0 (AnalystSoft, США). Нормальность распределения данных оценивали с применением теста Шапиро-Уилка. Однородность дисперсий определяли тестом Левена. Статистически значимые отличия между группами оценивали методом однофакторного дисперсионного анализа. Сравнение с группой ЛО крыс осуществляли в тесте Даннета при $p < 0,05$. Оценку достоверных отличий между остальными группами животных производили с использованием теста Тьюки (при нормальном распределении данных) или Краскелла-Уоллиса с последующим парным сравнением в тесте Данна (при распределении данных отличных от нормального) при критическом уровне значимости $p < 0,05$ (Поздняков, 2022).

¹ Красильщикова М.С., Белозерцева И.В (2012). Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях / пер. с англ. Санкт-Петербург, 2012. 48 с.

² Percie Du Sert, N., Hurst, V., Ahluwalia, A., Alam, S., Avey, M. T., Baker, M., Browne, W. J., Clark, A., Cuthill, I. C., Dirnagl, U., Emerson, M., Garner, P., Holgate, S. T., Howells, D. W., Karp, N. A., Lazic, S. E., Lidster, K., MacCallum, C. J., Macleod, M., ... Würbel, H. (2020). The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. PLOS Biology, 18(7), e3000410. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000410>

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализируя изменение зоны некроза головного мозга у крыс с фокальной ишемией было показано, что применение ЭГМПС и 3FC12 способствовало снижению данного показателя. Было показано, что у животных, которым фармакологическую коррекцию фокальной ишемии головного мозга осуществляли путем введения ЭГМПС и 3FC12 зона церебрального некроза снизилась на 17,6 % ($p < 0,05$) и 15,2 % ($p < 0,05$) соответственно (относительные показатели приведены в сравнении с НК группой животных). Необходимо подчеркнуть, что достоверных отличий величины зоны некроза головного мозга между группами животных, получавших референт (ЭГМПС) и анализируемое соединение (3FC12) установлено не было (Рисунок 1).

В дальнейшем было продемонстрировано, что у животных с ишемией головного мозга отмечается уменьшение активности СДГ в митохондриальной фракции мозговой ткани. Так у НК группы крыс отмечено снижение активности данного фермента относительно ЛО животных на 81,0 % ($p < 0,05$). У животных, получавших ЭГМПС и 3FC12 активность ДГ также была ниже ($p < 0,05$), чем

у ЛО группы крыс, но при этом, превосходила показатели активности фермента, полученные в НК группе крыс на 131,8 % ($p < 0,05$) и 137,5 % ($p < 0,05$) соответственно (Рисунок 2).

Также в ходе исследования установлено, что активность ЦСО в группе животных НК была на 71,0 % ($p < 0,05$) ниже аналогичной у ЛО крыс. В свою очередь на фоне применения ЭГМПС и 3FC12 активность ЦСО в сравнении с НК группой животных повысилась на 83,1 % ($p < 0,05$) и 79,0 % ($p < 0,05$) соответственно (Рисунок 3).

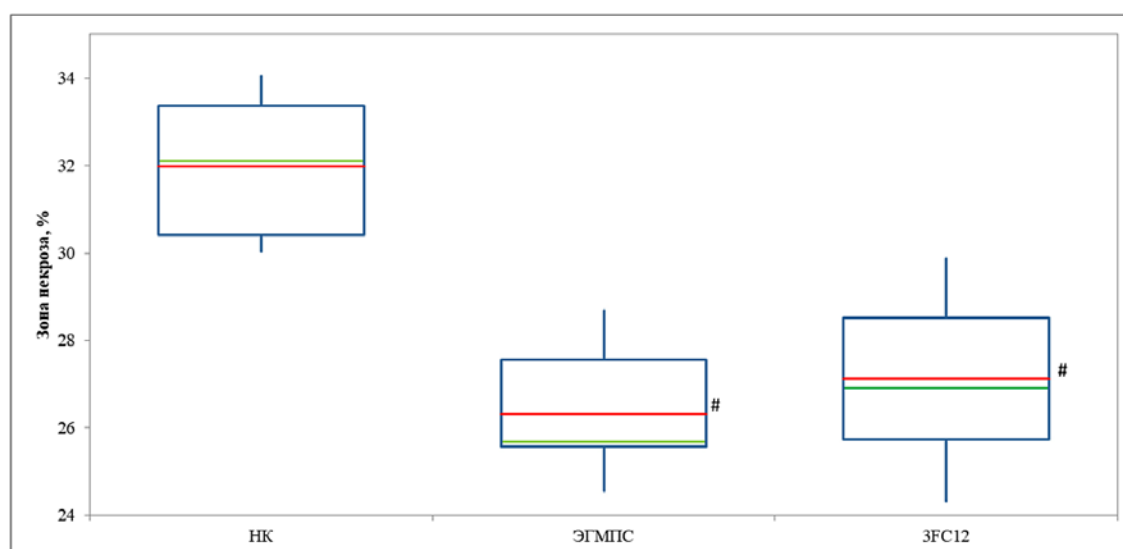
Анализируя изменение концентрации изофермента NOX4 (Рисунок 4) установлено, что в группе животных НК данный показатель превосходил таковой у ЛО крыс в 3,8 раза ($p < 0,05$). В ходе анализа изменения концентрации NOX4 было продемонстрировано повышение данного показателя у НК группы животных в сравнении с ЛО крысами). В группе животных, которым вводили референт ЭГМПС, содержание NOX4 уменьшилось по отношению к аналогичному параметру группы крыс, не получавших фармакологическую поддержку (НК группа), на 41,9 % ($p < 0,05$), тогда как на фоне применения 3FC12 концентрация NOX4 уменьшилась на 42,8 % ($p < 0,05$).

Рисунок 1

Влияние 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4H-1-бензопиран-4-она и этилметилгидроксипиридина сукцината на изменение зоны некроза головного мозга у крыс с экспериментальной фокальной ишемией

Figure 1

Effect of 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-one and ethylmethylhydroxypyridine succinate on the change in the area of brain necrosis in rats with experimental focal ischemia



Примечание. НК — группа негативного контроля; ЭГМПС — группа крыс, получавшая этилметилгидроксипиридина сукцинат; 3FC12 — группа животных, получавшая анализируемое соединение; # — достоверно относительно НК группы (тест Тьюки, $p < 0,05$).

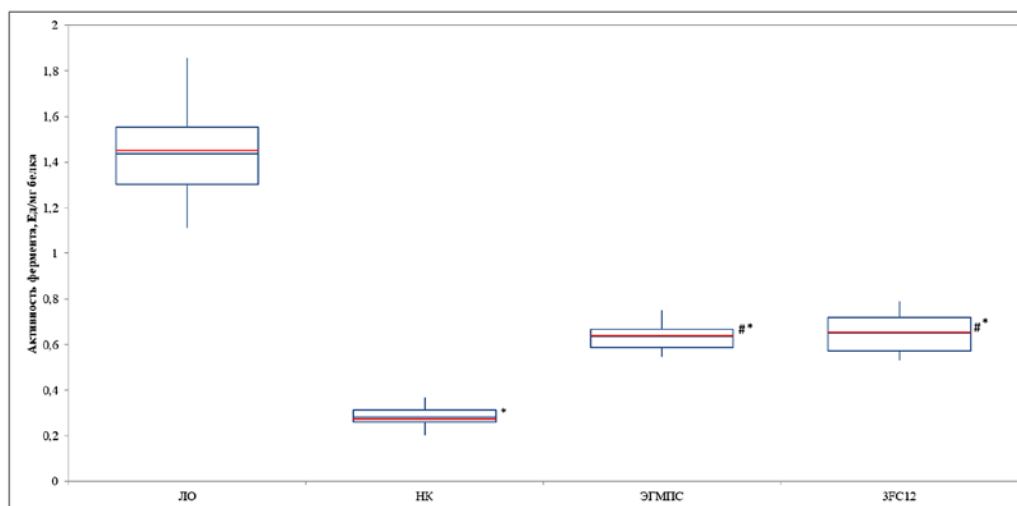
Note. NC — negative control group; EGMPs — group of rats receiving ethylmethylhydroxypyridine succinate; 3FC12 — group of animals receiving the analyzed compound; # — significant relative to the NC group (Tukey test, $p < 0.05$).

Рисунок 2

Влияние 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4H-1-бензопиран-4-она и этилметилгидроксипиридина сукцината на изменение активности сукцинатдегидрогеназы в митохондриальной фракции головного мозга у крыс с экспериментальной фокальной ишемией.

Figure 2

Effect of 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-one and ethylmethylhydroxypyridine succinate on the change in succinate dehydrogenase activity in the mitochondrial fraction of the brain in rats with experimental focal ischemia.



Примечание. НК — группа негативного контроля; ЭГМПС — группа крыс, получавшая этилметилгидроксипиридина сукцинат; 3FC12 — группа животных, получавшая анализируемое соединение; # — достоверно относительно НК группы (тест Тьюки, $p < 0,05$); * — достоверно относительно ЛО группы (тест Даннета, $p < 0,05$).

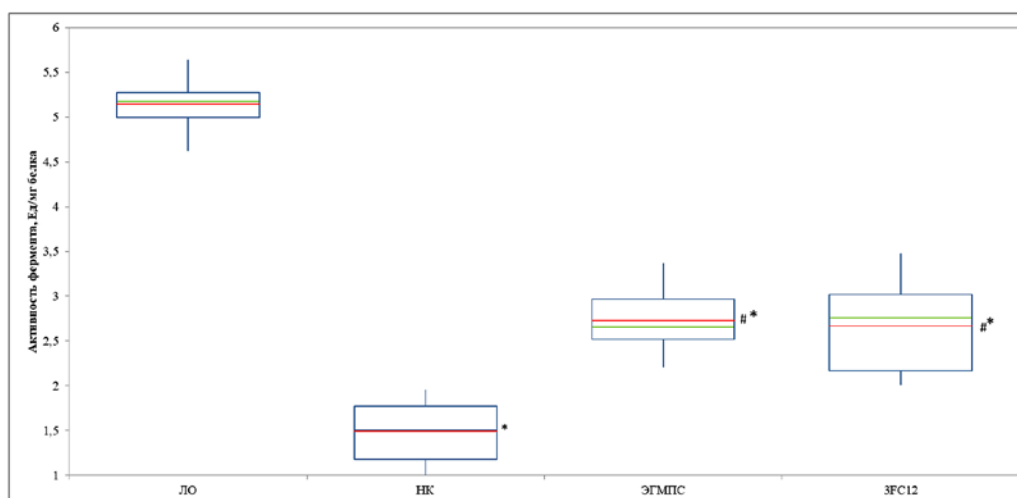
Note. NC — negative control group; EGMPS — group of rats receiving ethylmethylhydroxypyridine succinate; 3FC12 — group of animals receiving the analyzed compound; # — significant relative to the NC group (Tukey's test, $p < 0.05$); * — significant relative to the LO group (Dunnett's test, $p < 0.05$).

Рисунок 3

Влияние 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4H-1-бензопиран-4-она и этилметилгидроксипиридина сукцината на изменение активности цитохром-с-оксидазы в митохондриальной фракции головного мозга у крыс с экспериментальной фокальной ишемией

Figure 3

Effect of 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-one and ethylmethylhydroxypyridine succinate on changes in cytochrome c oxidase activity in the mitochondrial fraction of the brain in rats with experimental focal ischemia



Примечание. Условные обозначения аналогичны Рисунку 2.

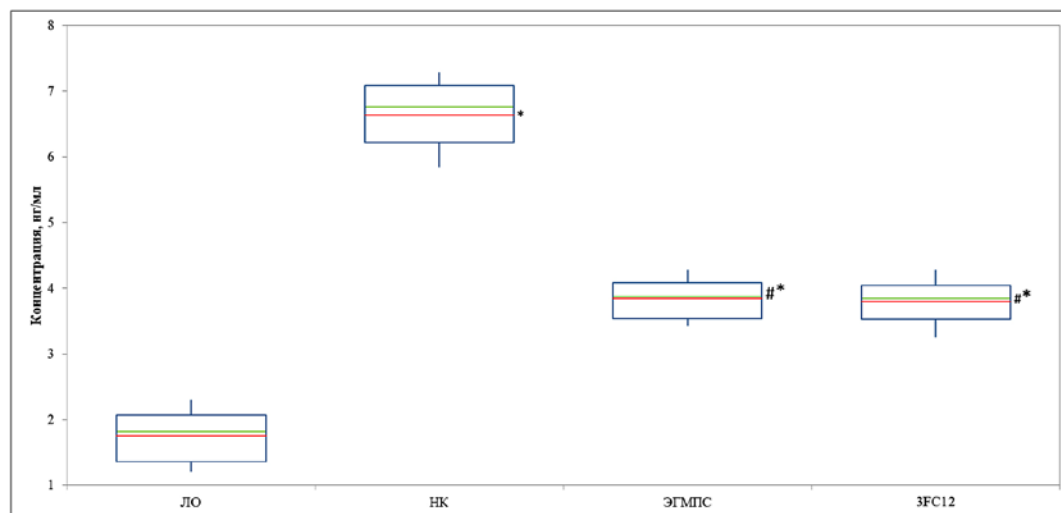
Note. The legend is the same as in Figure 2.

Рисунок 4

Влияние 3-[(1E)-3-(3,4-диметилфенил)-3-оксопроп-1-ен-1-ил]-4H-1-бензопиран-4-она и этилметилгидроксипиридина сукцината на изменение концентрации НАДФ-оксидазы 4 в митохондриальной фракции головного мозга у крыс с экспериментальной фокальной ишемией

Figure 4

Effect of 3-[(1E)-3-(3,4-dimethylphenyl)-3-oxoprop-1-en-1-yl]-4H-1-benzopyran-4-one and ethylmethylhydroxypyridine succinate on the change in the concentration of NADPH oxidase 4 in the mitochondrial fraction of the brain in rats with experimental focal ischemia



Примечание. Условные обозначения аналогичны Рисунку 2.

Note. The legend is the same as in Figure 2.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

NOX4 играет важную роль в патогенезе ишемического инсульта, являясь одним из ведущих источников АФК в клетке, в результате активируя окислительный стресс и другие элементы «ишемического каскада»: эксайтотоксичность, апоптоз, нейровоспаление, повреждение ГЭБ с сопутствующим развитием отека головного мозга (Shen et al., 2021; Поздняков с соавт., 2023). Также важно, что активация NOX4 способствует развитию митохондриальной дисфункции, выражаемой в нарушении аэробного метаболизма, снижении синтеза АТФ и митохондриального биогенеза, повышенной выработки митохондриальных АФК (Park et al., 2021).

Митохондриальный биогенез — это процесс новообразования митохондрий из уже имеющегося пула клеточных органелл. В условиях ишемии митохондриальный биогенез имеет тенденцию к повышению, что указывает на возможную роль данного процесса как «эндогенного нейропротектора». При этом, чаще всего отмечается краткосрочная активация, а в отсроченном периоде митохондриальный биогенез подавляется по АФК-зависимым механизмам. В результате отмечается образование дефектных деполяризованных митохондрий, склонных к усиленной генерации АФК, проапоптотических и провоспалительных молекул, что усугубляет повреждение головного мозга (Shademan et al., 2023).

Проведенное исследование показало, что в условиях фокальной ишемии головного мозга у крыс отмечается повышение концентрации NOX4 в ткани головного мозга, при сопутствующем угнетении активности ферментативных биомаркеров митохондриального биогенеза — СДГ и ЦСО (Поздняков, 2023). Также было показано, что применение ЭГМПС и соединения 3FC12 способствовало увеличению активности СДГ и ЦСО, при снижении концентрации NOX4. Стоит отметить, что наблюдаемые изменения сопровождались уменьшением зоны некроза головного мозга у животных. Учитывая тот факт, что соединение 3FC12 является производным бензопиранона, подавление активности NOX4 и последующие положительные изменения митохондриального биогенеза можно в некоторой степени объяснить структурой скаффолда данного вещества. Так блокада NOX4 была описана Wang et al. (2017) для соединения ZYZ-772, также являющегося бензопирановым производным. Syed et al. (2023) показали, что гесперидин подавляет NOX4-опосредованный окислительный стресс, регулируя активность SIRT1-зависимых путей. Таким образом, можно предположить, что нейропротекторный эффект соединения 3FC12 связан со снижением NOX4-зависимого повреждения митохондрий и повышением реакций митохондриального биогенеза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основываясь на полученных данных можно предположить, что введение соединения 3FC12 животным с фокальной ишемией сопровождается развитием нейропротекторного эффекта сопоставимого с таковым у референта и выражаемым в виде уменьшения зоны некроза головного мозга. При этом, механизмом реализации нейропротекторного действия 3FC12 по всей видимости является уменьшение NOX4-опосредованных реакций угнетения митохондриальной функции.

ЛИТЕРАТУРА/ REFERENCES

- Поздняков Д. И. (2023). VDAC1-зависимые митохондриальные эффекты соединений, содержащих 4-гидрокси-3,5-дитрет-бутилфенильный заместитель, при экспериментальной очаговой ишемии головного мозга. *Молекулярная медицина*, 21 (1), 58–64. <https://doi.org/10.29296/24999490-2023-03-08>
- Pozdnyakov, D. I. (2023). VDAC1-dependent mitochondrial effects of compounds containing the 4-hydroxy-3,5-ditretbutyl phenyl substituent in experimental focal cerebral ischaemia. *Molekulyarnaya Meditsina [Molecular medicine]*, 21(1), 58–64. <https://doi.org/10.29296/24999490-2023-03-08> (In Russ.)
- Воронков, А. В., Поздняков, Д. И., Руковицина, В. М., Веселова, О. Ф., Олохова, Е. А., & Оганесян, Э. Т. (2019). Антирадикальные и хелатирующие свойства производных хромон-3-альдегида. *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 82(12), 32–35. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-12-32-35>
- Voronkov, A. V., Pozdnyakov, D. I., Rukavitsyna, V. M., Veselova, O. F., Olokhova, E. A., & Oganessian, E. T. (2019). Antiradical and chelating properties of chromon-3-aldehyde derivatives. *Experimental and Clinical Pharmacology*, 82(12), 32–35. <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2019-82-12-32-35> (In Russ.)
- Поздняков, Д. И. (2022). Молекулярные механизмы нейропротекции 3-[(Е)-3-(3,5-дитрет-бутил-4-гидроксифенил)-3-оксопроп-1-енил]-6-метокси-хромон-4-она при экспериментальной черепно-мозговой травме. *Молекулярная медицина*, 20(3), 54–59. <https://doi.org/10.29296/24999490-2022-03-08>
- Pozdnyakov, D. I. (2022). Molecular mechanisms of neuroprotection of 3-[(E)-3-(3,5-ditret-butyl-4-hydroxyphenyl)-3-oxoprop-1-enyl]-6-methoxy-chromene-4-one in experimental traumatic brain injury. *Molekulyarnaya Meditsina [Molecular medicine]*, 20(3), 54–59. <https://doi.org/10.29296/24999490-2022-03-08> (In Russ.)
- Bernard, K., Logsdon, N. J., Miguel, V., Benavides, G. A., Zhang, J., Carter, A. B., Darley-USmar, V. M., & Thannickal, V. J. (2017). NADPH Oxidase 4 (Nox4) Suppresses Mitochondrial Biogenesis and Bioenergetics in Lung Fibroblasts via a Nuclear Factor Erythroid-derived 2-like 2 (Nrf2)-dependent Pathway. *Journal of Biological Chemistry*, 292(7), 3029–3038. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.752261>
- Chen, W., Guo, Y., Yang, W., Zheng, P., Zeng, J., & Tong, W. (2015). Protective effect of ginsenoside Rb1 on integrity of blood–brain barrier following cerebral ischemia. *Experimental Brain Research*, 233(10), 2823–2831. <https://doi.org/10.1007/s00221-015-4352-3>
- Dai, Y., Zhang, H., Zhang, J., & Yan, M. (2018). Isoquercetin attenuates oxidative stress and neuronal apoptosis after ischemia/reperfusion injury via Nrf2-mediated inhibition of the NOX4/ROS/NF-κB pathway. *Chemico-Biological Interactions*, 284, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.02.017>
- Feske, S. K. (2021). Ischemic Stroke. *The American Journal of Medicine*, 134(12), 1457–1464. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2021.07.027>
- Haupt, M., Gerner, S. T., Bähr, M., & Doeppner, T. R. (2023). Neuroprotective Strategies for Ischemic Stroke—Future Perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5), 4334. <https://doi.org/10.3390/ijms24054334>
- Li, Y., D'Aurelio, M., Deng, J.-H., Park, J.-S., Manfredi, G., Hu, P., Lu, J., & Bai, Y. (2007). An Assembled Complex IV Maintains the Stability and Activity of Complex I in Mammalian Mitochondria. *Journal of Biological Chemistry*, 282(24), 17557–17562. <https://doi.org/10.1074/jbc.M701056200>
- Lu, P., Zhang, C., Zhang, X., Li, H., Luo, A., Tian, Y., & Xu, H. (2017). Down-regulation of NOX4 by betulinic acid protects against cerebral ischemia-reperfusion in mice. *Current Medical Science*, 37(5), 744–749. <https://doi.org/10.1007/s11596-017-1798-5>
- Palomino-Antolín, A., Decouty-Pérez, C., Farré-Alins, V., Narros-Fernández, P., Lopez-Rodriguez, A. B., Álvarez-Rubal, M., Valencia, I., López-Muñoz, F., Ramos, E., Cuadrado, A., Casas, A. I., Romero, A., & Egea, J. (2023). Redox Regulation of Microglial Inflammatory Response: Fine Control of NLRP3 Inflammasome through Nrf2 and NOX4. *Antioxidants*, 12(9), 1729. <https://doi.org/10.3390/antiox12091729>
- Park, M. W., Cha, H. W., Kim, J., Kim, J. H., Yang, H., Yoon, S., Boonpraman, N., Yi, S. S., Yoo, I. D., & Moon, J.-S. (2021). NOX4 promotes ferroptosis of astrocytes by oxidative stress-induced lipid peroxidation via the impairment of mitochondrial metabolism in Alzheimer's diseases. *Redox Biology*, 41, 101947. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101947>
- Paul, S., & Candelario-Jalil, E. (2021). Emerging neuroprotective strategies for the treatment of ischemic stroke: An overview of clinical and preclinical studies. *Experimental Neurology*, 335, 113518. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2020.113518>

- Pozdnyakov, D. I., Zolotykh, D. S., Rukovitsina, V. M., & Oganessian, E. T. (2022). Chromone derivatives suppress neuroinflammation and improve mitochondrial function in the sporadic form of Alzheimer's disease under experimental conditions. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 25(7). <https://doi.org/10.22038/ijbms.2022.65377.14387>
- Pozdnyakov, D. I., Zolotykh, D. S., & Vihor, A. A. (2023). An effect of ethylmethylhydroxypyridine succinate and ethylmethylhydroxypyridine malate on changes in mitochondrial function under conditions of focal cerebral ischemia. *Zhurnal Nevrologii i Psikiatrii Im. S.S. Korsakova [S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry]*, 123(11), 111. <https://doi.org/10.17116/jnevro20231231111111> (In Russ.)
- Pozdnyakov, D., Voronkov, A., & Rukovitsyna, V. (2020). Chromon-3-aldehyde derivatives restore mitochondrial function in rat cerebral ischemia. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23(9). <https://doi.org/10.22038/ijbms.2020.46369.10710>
- Shademan, B., Avci, C. B., Karamad, V., Soureh, G. J., Olia, J. B. H., Esmaily, F., Nourazarian, A., & Nikanfar, M. (2023). The Role of Mitochondrial Biogenesis in Ischemic Stroke. *Journal of Integrative Neuroscience*, 22(4), 88. <https://doi.org/10.31083/jjin2204088>
- Shen, J., Li, G., Zhu, Y., Xu, Q., Zhou, H., Xu, K., Huang, K., Zhan, R., & Pan, J. (2021). Foxo1 induced miR 92b down regulation promotes blood brain barrier damage after ischaemic stroke by targeting NOX4. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 25(11), 5269–5282. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16537>
- Syed, A. A., Reza, M. I., Yadav, H., & Gayen, J. R. (2023). Hesperidin inhibits NOX4 mediated oxidative stress and inflammation by upregulating SIRT1 in experimental diabetic neuropathy. *Experimental Gerontology*, 172, 112064. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2022.112064>
- Tamura, A., Graham, D. I., McCulloch, J., & Teasdale, G. M. (1981). Focal Cerebral Ischaemia in the Rat: 1. Description of Technique and Early Neuropathological Consequences following Middle Cerebral Artery Occlusion. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 1(1), 53–60. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.1981.6>
- Wang, H., Huwaimel, B., Verma, K., Miller, J., Germain, T. M., Kinarivala, N., Pappas, D., Brookes, P. S., & Trippier, P. C. (2017). Synthesis and Antineoplastic Evaluation of Mitochondrial Complex II (Succinate Dehydrogenase) Inhibitors Derived from Atpenin A5. *ChemMedChem*, 12(13), 1033–1044. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700196>
- Wang, Y., Zhong, L., Liu, X., & Zhu, Y. (2017). ZYZ-772 Prevents Cardiomyocyte Injury by Suppressing Nox4-Derived ROS Production and Apoptosis. *Molecules*, 22(2), 331. <https://doi.org/10.3390/molecules22020331>
- Xu, W., Li, T., Gao, L., Zheng, J., Yan, J., Zhang, J., & Shao, A. (2019). Apelin-13/APJ system attenuates early brain injury via suppression of endoplasmic reticulum stress-associated TXNIP/NLRP3 inflammasome activation and oxidative stress in a AMPK-dependent manner after subarachnoid hemorrhage in rats. *Journal of Neuroinflammation*, 16(1), 247. <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1620-3>
- Zeng, C., Wu, Q., Wang, J., Yao, B., Ma, L., Yang, Z., Li, J., & Liu, B. (2016). NOX4 supports glycolysis and promotes glutamine metabolism in non-small cell lung cancer cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 101, 236–248. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.500>
- Zhao, Y., Zhang, X., Chen, X., & Wei, Y. (2021). Neuronal injuries in cerebral infarction and ischemic stroke: From mechanisms to treatment (Review). *International Journal of Molecular Medicine*, 49(2), 15. <https://doi.org/10.3892/ijmm.2021.5070>