

АСТАКСАНТИН ПРЕДОТВРАЩАЕТ ДИСРЕГУЛЯЦИЮ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДИНАМИКИ В МИТОХОНДРИЯХ МОЗГА КРЫС, ИНДУЦИРОВАННУЮ ИЗОПРОТЕРЕНОЛОМ

© 2024 г. Р.Р. Крестинин*, Ю.Л. Бабурина*, И.В. Одиноква*,
Л.Д. Сотникова*, О.В. Крестинина*, #

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,
Институтская ул., 3, Пущино Московской области, 142290, Россия

#E-mail: ovkres@mail.ru

Поступила в редакцию 23.10.2023 г.

После доработки 13.11.2023 г.

Принята к публикации 15.11.2023 г.

Митохондрии принимают участие в заболеваниях различной этиологии. Использование препаратов, направленных на улучшение функционального состояния митохондрий, может представлять собой многообещающий терапевтический подход к заболеваниям различной природы. Астаксантин представляет собой кето-каротиноид (ксантофилл) преимущественно морского происхождения. Он обладает как липофильными, так и гидрофильными свойствами и может проникать через клеточную мембрану, локализуясь в митохондриях, и предотвращать митохондриальную дисфункцию. В настоящем исследовании изучили влияние астаксантина на функциональное состояние митохондрий мозга крысы, изменение митохондриальной динамики и митофагии при изопротеренол-индуцированном повреждении. При действии астаксантина митохондрии были более устойчивы к Ca^{2+} -индуцированному открытию неспецифической поры, активность комплексов I, IV и V дыхательной цепи повышалась. Более того, астаксантин изменял уровень маркеров деления и слияния митохондрий, а также митофагии при изопротеренол-индуцированной митохондриальной дисфункции, что, вероятно, приводило к повышению количества функциональных митохондрий мозга крыс и улучшению их состояния. Астаксантин можно рассматривать как митохондриально-направленный агент в терапии при патологических состояниях, связанных с окислительным повреждением и митохондриальной дисфункцией, вызванных сердечной недостаточностью. В качестве пищевой добавки астаксантин обладает потенциалом антиоксидантной защиты клеток при сердечно-сосудистых заболеваниях.

Ключевые слова: астаксантин, изопротеренол-индуцированная митохондриальная дисфункция, митофагия, митохондриальные динамики.

DOI: 10.31857/S0006302924010091, EDN: RCSHTH

Сердечная недостаточность представляет собой совокупность расстройств, которые обусловлены низкой сократительной способностью сердечной мышцы – миокарда. Это такое состояние сердца и сосудистой системы, при котором невозможно полноценно обеспечивать организм кислородом и питательными веществами. В результате нарушения питания, гипоксемии и гипоксии развиваются необратимые нарушения и

изменения во внутренних органах. Заболевания сердца являются одной из причин, из-за которых возникает расстройство мозгового кровообращения, в результате чего нарушается кровоток в артериях и уменьшается кровоснабжение мозга [1, 2]. Причиной этого часто является недостаточное снабжение мозга кислородом. Поддержание структурной и функциональной целостности митохондрий необходимо для нормального функционирования клетки. Митохондриальная дисфункция приводит к развитию различных патологий, таких как нейродегенеративные, сердечно-сосудистые и др. [3]. Митохондриальная дисфункция может вызывать окислительный стресс [4]. Снизить окислительный стресс способны антиоксиданты [5]. Одним из таких анти-

Сокращения: мРТР – пора неспецифической проницаемости (mitochondrial permeability transition pore), OPA1 – белок 1 атрофии зрительного нерва, DRP1 – родственник динамину белок 1, PINK1 – PTEN-индуцированная киназа 1, $V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{in}}$ – скорость входа Ca^{2+} в митохондрии, ММК – митохондрии мозга крыс.

оксидантов является астаксантин — представитель ксантофиллов, который представляет собой фитонутриент темно-красного цвета, который может быть синтезирован микроводорослями *Haematococcus pluvialis* [6]. Он имеет уникальную молекулярную структуру, которая позволяет ему оставаться как внутри, так и вне клеточной мембраны [7]. Известно, что астаксантин значительно ослабляет митохондриальную дисфункцию, связанную с ишемическим повреждением миокарда, может снижать окислительный стресс [8] и предотвращать развитие сердечно-сосудистых заболеваний [8–11]. Более того, было показано, что астаксантин улучшает обучение и способствует восстановлению памяти, снижает повреждение нейронов, увеличивает количество пирамидных нейронов в гиппокампе и восстанавливает нормальную морфологию нейронов [12]. Ранее мы показали, что астаксантин снижал дегенерацию, отек мышечных волокон сердца и степень фиброзного повреждения миокарда после введения изопротеренола. Изопротеренол используется в качестве модели сердечной недостаточности [13]. Кроме того, астаксантин улучшал функциональное состояние митохондрий сердца у крыс. Введение астаксантина в сочетании с инъекцией изопротеренола увеличивало дыхательный контроль в митохондриях сердца крыс. Также астаксантин повышал Ca^{2+} -емкость и снижал скорость набухания митохондрий, что замедляло открытие поры неспецифической проницаемости (mPTP — mitochondrial permeability transition pore), т.е. снижало проницаемость митохондриальной мембраны [10, 11].

Митохондрии млекопитающих образуют высокодинамическую ретикулярную сеть, в которой происходят слияние и деление митохондрий, при этом относительный баланс этих двух событий влияет на контроль качества митохондрий. Слияние (fusion) опосредуется митофузином 1, митофузином 2 и белком OPA1 (белком 1 атрофии зрительного нерва), которые играют роль в слиянии внешней и внутренней мембран митохондрий соответственно. Родственный динамину белок 1 (DRP1) необходим для деления (fission) митохондрий и регулируется посредством фосфорилирования с помощью протеинкиназы A и Cdk1/циклина B [14, 15]. Когда митохондрии повреждены, слияние митохондрий может снимать окислительный стресс, позволяя функциональным митохондриям дополнять дисфункциональные митохондрии путем диффузии и обмена компонентами между органеллами. Деление необходимо для создания новых митохондрий, однако оно также способствует контролю качества митохондрий, позволяя удалять поврежденные митохондрии [16].

Митофагия — это процесс избирательной деградации митохондрий путем доставки в лизосомы/вакуоли с использованием процессов аутофагии. Он представляет значительный интерес как для ученых-биологов, так и для клиницистов из-за многих новых аспектов этого пути и связей между митофагией и физиологическими процессами, такими как развитие и старение, а также некоторыми заболеваниями, например нейродегенеративными и онкологическими [17–19]. В нормальных условиях митохондрии постоянно подвергаются циклам деления и слияния, что помогает сохранить нормальную функцию митохондрий за счет обмена содержимого матрикса. Дисбаланс в равновесии деления/слияния или повреждение митохондрий может привести к деградации митохондрий путем митофагии. Взаимосвязанные факторы, такие как индукция митофагии, динамика митохондрий (деление и слияние), модуляция молекулярных механизмов митофагии путем нацеливания на отдельные компоненты, взаимодействие с другими видами аутофагии и митохондриальный биогенез образуют сложную взаимодействующую сеть, которая управляет митохондриальной деградацией посредством митофагии, и, таким образом, митохондриальной функцией, и клеточной целостностью [20].

В настоящем исследовании мы изучили влияние астаксантина на изменение функционального состояния митохондрий мозга, митохондриальной динамики и митофагии у крыс с изопротеренол-иницированной митохондриальной дисфункцией.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Подготовка животных к эксперименту. Для исследования использовали четыре группы крыс линии Вистар (в возрасте 2 месяца, массой 220–250 г). Первая группа была контрольная, второй группе вводили астаксантин (150 мг/кг, Natural, Китай) в течение 14 суток [21] ежедневно с помощью пластиковых трубочек, позволяющих безболезненно вводить вещество; третьей группе делали инъекцию изопротеренола (100 мг/кг) [13] дважды в течение двух суток подкожно; четвертой группе вводили астаксантин так же, как и второй группе, затем проводили инъекцию изопротеренола так же, как третьей группе.

Выделение митохондрий мозга крыс. Мозг извлекали в течение 20–26 с и оставляли в физиологическом растворе в течение 5 мин. Несинаптические митохондрии мозга крысы (ММК) выделяли методом, описанным в работе [22] и модифицированным в нашей лаборатории [23]. После охлаждения мозг измельчали и помещали в раствор, содержащий 320 мМ сахарозы, 0,5 мМ ЭДТА, 0,5 мМ ЭГТА, 0,02% бычьего сывороточ-

ного альбумина (фракция V, не содержащая жирных кислот) и 10 мМ трис-НСl, рН 7.4 и гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе в соотношении 1:10. Гомогенат центрифугировали при 2000 g в течение 3 мин. Процедуру повторяли дважды и осадок удаляли. Супернатант центрифугировали при 12500 g в течение 10 мин. Осадок промывали в градиенте Перколла (3–10–15–24%) при 31300 g в течение 10 мин. Полученный осадок несинаптических митохондрий (нижний слой) суспендировали в среде выделения без ЭДТА, ЭГТА и альбумина и центрифугировали при 11500 g в течение 10 мин. Осадки ресуспендировали в том же буфере. Все манипуляции проводили при 4°C. Концентрацию белка определяли по методу Брэдфорда (Bio Rad Protein assay, Bio-Rad, Германия), она составляла 30–35 мг/мл.

Измерение митохондриальных функций. Скорости потребления O_2 при Ca^{2+} -индуцированном открытии мРТР и скорость входа Ca^{2+} в митохондрии измеряли в термостатируемой ячейке, в которую вмонтированы O_2 -электрод Кларка (Clark-type electrode) и Ca^{2+} -селективный электрод [10, 24]. Митохондрии инкубировали в среде, содержащей 10 мМ трис-НСl-буфере, рН 7.4, содержащем 120 мМ КCl, 0.4 мМ KH_2PO_4 . Глутамат (5 мМ) и малат (5 мМ) использовали в качестве дыхательных субстратов. Концентрация митохондриального белка в среде составляла 1 мг/мл. Ca^{2+} добавляли последовательно, каждая добавка составляла 25 нмоль на 1 мг белка. Скорости потребления O_2 при Ca^{2+} -индуцированном открытии мРТР считали как число атомов нг-О, потребляемых митохондриями в минуту на мг белка. Все измерения проводили при открытой ячейке.

Нативный электрофорез и измерение активности комплексов электрон-транспортной цепи (I, IV) и АТФ-синтазы. Электрофорез в неденатурирующих условиях выполняли, как описано в работе [25]. Изолированные ММК суспендировали в буфере, содержащем 0.75 М аминокaproновой кислоты, 50 мМ бис-трис/НСl, рН 7.0, и 10% додецилмальтозида, суспензию держали на льду в течение 20 мин. После 10-минутного центрифугирования при 10000 g в супернатант добавляли 5%-й Serva Blue G, растворенный в 1 М аминокaproновой кислоте. Образцы наносили на градиентный (3–13%) гель с нагрузкой 70 мкг образца на дорожку. Калибровочный набор НМВ для нативного электрофореза (Sigma-Aldrich, США) использовали в качестве молекулярных маркеров. Активность комплексов I, IV и V в геле определяли, как описано ранее [26]. Для измерения активности комплекса I гель помещали в буфер, содержащий 100 мМ трис-НСl, рН 7.4, 0.14 мМ НАДН, 1 мг/мл NBT (нитросинего тетразолия хлорид) в

течение ~10–30 мин. Для выявления активности комплекса IV гель окрашивали в течение 1 ч буфером, содержащим 10 мМ KH_2PO_4 (рН 7.4), 1 мг/мл 3,3'-диаминобензидина и 0.2 мг цитохрома c. Для определения активности комплекса V гель окрашивали в течение 16 ч буфером, содержащим 10 мМ АТФ, 35 мМ трис-НСl, 270 мМ глицина, 14 мМ $MgSO_4$, 0.2% $Pb(NO_3)_2$. После инкубации в соответствующих субстратах реакции останавливали 10%-й уксусной кислотой, гели промывали водой и сканировали.

Электрофорез и вестерн-блоттинг. Аликвоты митохондриальной суспензии (2 мг/мл) из каждой экспериментальной группы переносили в пробирки (типа «Эппендорф») и солибилизировали в буфере Лэммли (Bio-Rad, США). Образцы митохондриального белка (20 мкг) наносили на каждую дорожку и разделяли методом электрофореза (12.5%-й гель) в денатурирующих условиях. Перенос белков с геля на нитроцеллюлозную мембрану (0.2 мкм) осуществляли методом вестерн-блоттинга. Полученные мембраны окрашивали антителами к DRP1 (Elabscience, США), митофузину 2 (Elabscience, США), OPA1 (Cloud-Clone Corp., США), PTEN-индуцированной киназе 1 (PINK1, Cusabio, США) и прохихитину 2 (Cusabio, США). Транслоказу внешней мембраны (Cell Signaling, США) и цитохром c-оксидазу использовали для нормирования белка.

Статистический анализ. Для статистического анализа использовали среднее значение \pm стандартное отклонение не менее чем четырех независимых экспериментов. Статистическую значимость различий между парами средних значений оценивали с помощью критерия Стьюдента–Ньюмена–Кеулса. Различие считалось достоверным при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сначала мы изучили влияние астаксантина, изопротеренола и совместное действие астаксантина и изопротеренола на изменение скоростей дыхательных активностей, скорости входа Ca^{2+} ($V_{Ca^{2+}}^{in}$) в митохондрии и пороговой концентрации Ca^{2+} (концентрация Ca^{2+} , при которой происходит открытие мРТР) в ММК (рис. 1). Видно, что в присутствии астаксантина (рис. 1б) количество добавок Ca^{2+} (5 добавок) не отличалось от контроля (рис. 1а), тогда как в присутствии изопротеренола (4 добавки) количество добавок Ca^{2+} снижалось по сравнению с контролем. При совместном действии астаксантина и изопротеренола (рис. 1г), количество добавок не отличалось от контроля. При воздействии изопротеренола митохондрии мозга были более чувствитель-

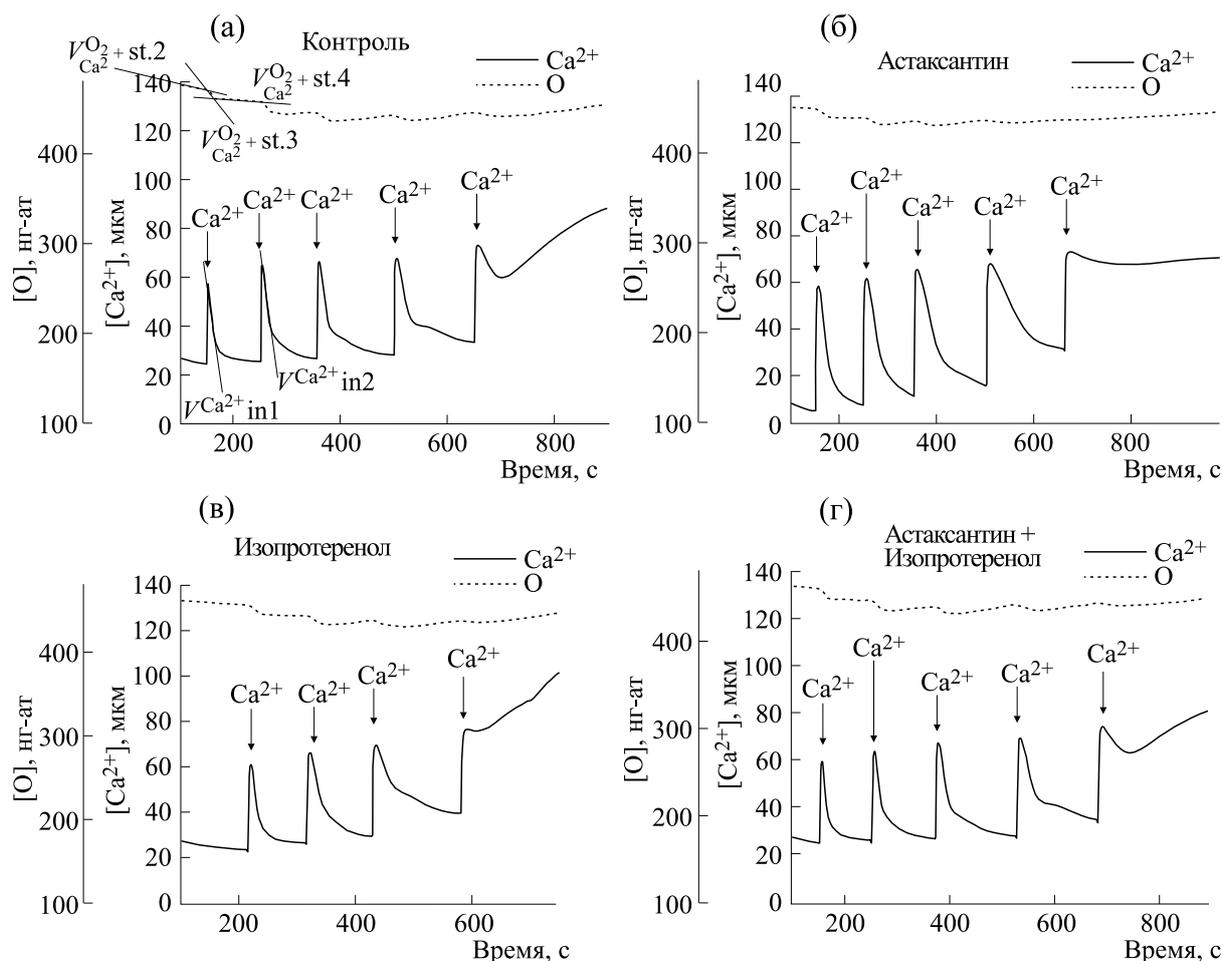


Рис. 1. Влияние астаксантина и изопротеренола на транспорт Ca^{2+} и потребление O_2 в митохондриях мозга крыс: (а) – контроль, (б) – в присутствии астаксантина, (с) – в присутствии изопротеренола, (д) – совместное действие астаксантина и изопротеренола. По оси абсцисс – время после добавления ММК, стрелки показывают время добавления Ca^{2+} (25 мкМ). Данные представлены как среднее значение ($\pm SD$) из пяти независимых экспериментов.

ны к Ca^{2+} , тогда как астаксантин способствовал устойчивости митохондрий к формированию МРТР.

На рис. 2 показаны количественные характеристики скоростей входа Ca^{2+} после первой ($V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{in.1}}$) и второй ($V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{in.2}}$) добавок, дыхательных активностей при Ca^{2+} -индуцированном открытии мРТР и значение пороговой концентрации Ca^{2+} в наших экспериментальных условиях. Как видно на рис. 2а, величина $V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{in.1}}$ в присутствии астаксантина и при комбинированном воздействии астаксантина и изопротеренола не изменялась по сравнению с контролем и снижалась в присутствии изопротеренола на 36% по сравнению с контролем и на 26% по сравнению с астаксантином и изопротеренолом при их комбинированном воздействии. Аналогичный эффект на-

блюдался при подсчете $V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{in.2}}$ (рис. 2б). Изопротеренол снижал этот параметр на 40% по сравнению с контролем и на 36% по сравнению с астаксантином и изопротеренолом при их комбинированном воздействии. Снижение скорости входа Ca^{2+} в присутствии изопротеренола говорит о том, что митохондрии более чувствительны к Ca^{2+} , тогда как в присутствии астаксантина ММК из группы 4 более устойчивы к индукторному воздействию Ca^{2+} , несмотря на добавление изопротеренола. Этот эффект подтверждается при измерении пороговой концентрации Ca^{2+} (рис. 2в). Пороговая $[\text{Ca}^{2+}]$ в присутствии изопротеренола уменьшалась на 38% по сравнению с контролем и на 30% по сравнению с совместным действием астаксантина и изопротеренола. На рис. 2г показано изменение скорости потребления O_2 в состоянии 2 ($V_{\text{O}_2}^{\text{st.2}}$). Как видно на

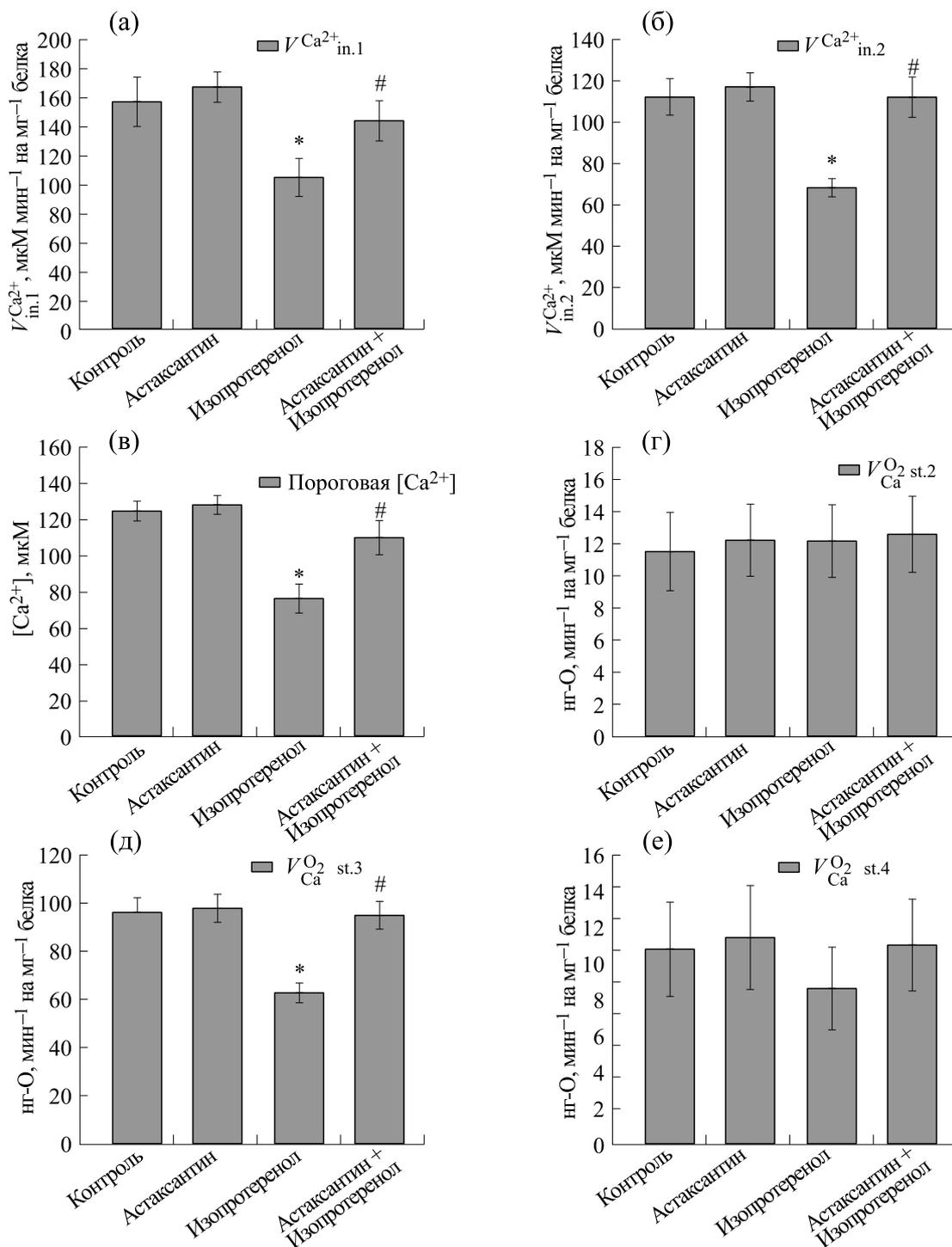


Рис. 2. Количественные характеристики эффектов астаксантина и изопротеренола на транспорт Ca^{2+} и потребление O_2 в митохондриях мозга крыс: (а) – изменение скорости входа Ca^{2+} после первой добавки Ca^{2+} ($V_{Ca^{2+}}^{in.1}$), (б) – изменение скорости входа Ca^{2+} после второй добавки Ca^{2+} ($V_{Ca^{2+}}^{in.2}$), (в) – изменение пороговой концентрации Ca^{2+} , (г) – изменение скорости потребления O_2 в состоянии 2 ($V_{Ca}^{O_2 st.2}$); (д) – изменение скорости потребления O_2 в состоянии 3 ($V_{Ca}^{O_2 st.3}$); (е) – изменение потребления O_2 в состоянии 4 ($V_{Ca}^{O_2 st.4}$). Все измерения проведены в открытой ячейке. Данные представлены как среднее значение ($\pm SD$) из пяти независимых экспериментов. * – Значимое изменение по сравнению с контролем, $p < 0.05$; # – значимое изменение по сравнению с изопротеренолом, $p < 0.05$.

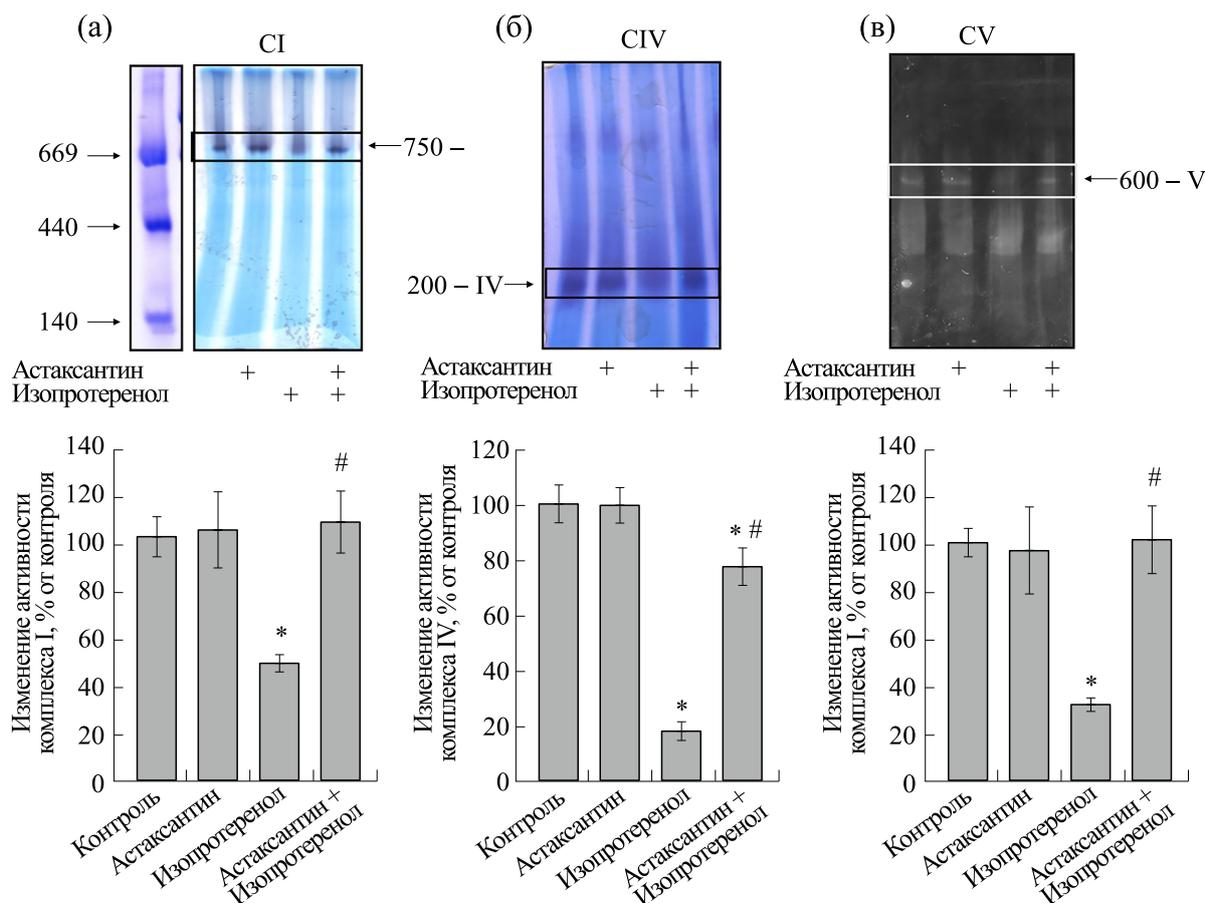


Рис. 3. Влияние астаксантина на активность комплексов I, IV и V дыхательной цепи при изопротеренол-индуцированной митохондриальной дисфункции. (а) – Вверху гель, окрашенный буфером для определения активности CI, содержащий 100 мМ трис-HCl, pH 7.4, 0.14 мМ NADH, 1 мг/мл NBT; внизу диаграмма, количественно отражающая изменения активности CI. (б) – Вверху гель, окрашенный буфером для определения активности CIV, содержащий 10 мМ KH_2PO_4 (pH 7.4), 1 мг/мл DAB и 0.2 мг цитохрома c; внизу диаграмма, количественно отражающая изменения активности CIV. (в) – Вверху гель, окрашенный буфером для определения активности CV (10 мМ АТФ, 35 мМ трис-HCl, 270 мМ глицин, 14 мМ MgSO_4 , 0.2% $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$), внизу диаграмма, количественно отражающая изменения активности CV. Данные представлены как среднее значение ($\pm SD$) из четырех независимых экспериментов. * – Значимое изменение по сравнению с контролем, $p < 0.05$; # – значимое изменение по сравнению с изопротеренолом, $p < 0.05$.

этом рисунке, во всех условиях изменения не происходили. Добавление Ca^{2+} (первый импульс) приводило к повышению потребления O_2 в состоянии 3 ($V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{st.3}}$), причем в присутствии астаксантина величина $V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{st.3}}$ не отличалась от контроля, тогда как изопротеренол снижал $V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{st.3}}$ на 35% по сравнению с контролем (рис. 2д). При совместном воздействии астаксантина и изопротеренола $V_{\text{Ca}^{2+}}^{\text{st.3}}$ не отличалась от контроля, однако повышалась на 30% по сравнению с изопротеренолом (рис. 2е).

На следующем этапе нашего исследования мы измерили активность комплексов I, IV и V дыхательной цепи в геле после нативного электрофореза в наших экспериментальных условиях

(рис. 3). На рис. 3а показаны изменения активности NADH-убихинон-оксидоредуктазы комплекса I. Из рисунка видно, что введение астаксантина не изменяло активность NADH-убихинон-оксидоредуктазы комплекса I, в то время как изопротеренол снижал ее активность на 40% по сравнению с контролем. Совместное действие астаксантина и изопротеренола не изменяло активность CI по сравнению с контролем, но приводило к увеличению на 40% по сравнению с изопротеренолом. Изменения в активности цитохром c-оксидазы комплекса IV показаны на рис. 3б. Хроническое введение астаксантина не изменяло активность цитохром c-оксидазы комплекса IV, в то время как изопротеренол снижал ее активность в ММК на 70% по сравнению с контролем. Совместное действие астаксантина и

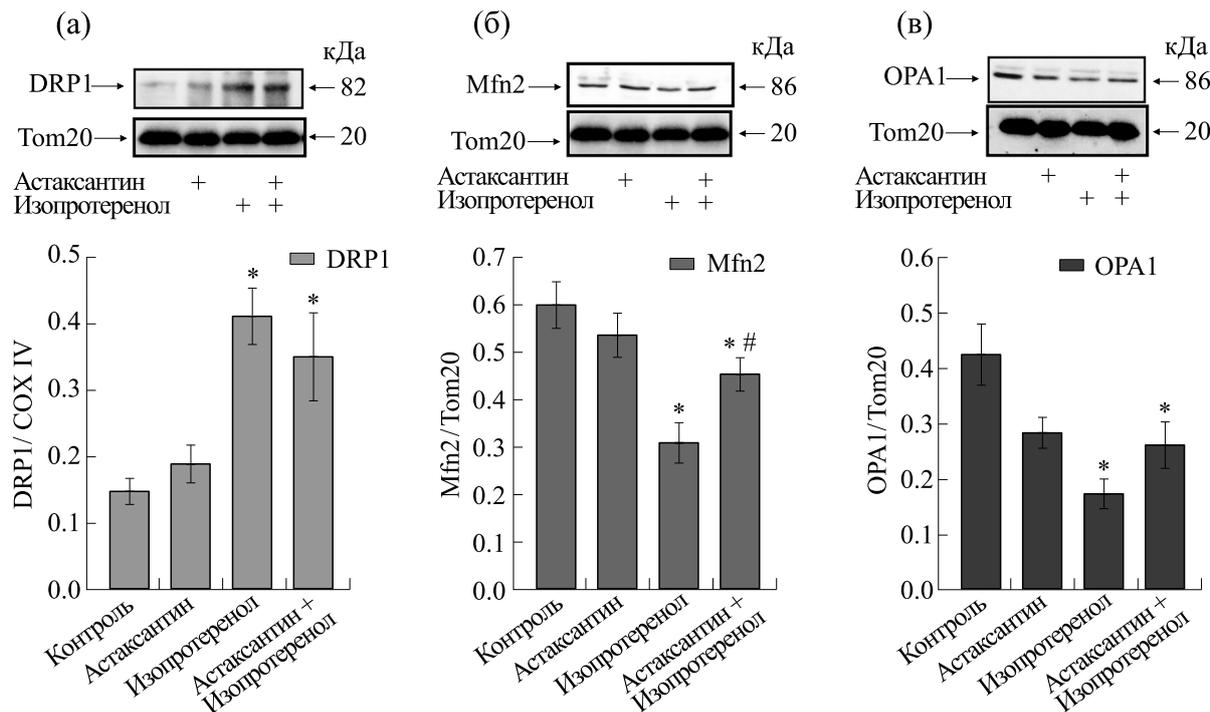


Рис. 4. Влияние астаксантина и изопротеренола на изменение содержания белков, участвующих в слиянии и делении митохондрий при изопротеренол-индуцированном повреждении. Транслоказу внешней мембраны использовали как контроль белковой нагрузки. (а) — Вверху иммуноокрашивание антителами к DRP1, внизу количественные характеристики, отражающие соотношение оптической плотности DRP1 к транслоказе внешней мембраны. (б) — Вверху иммуноокрашивание антителами к митофузину 2; внизу количественные характеристики, отражающие соотношение оптической плотности митофузина 2 к транслоказе внешней мембраны. (в) — Вверху иммуноокрашивание антителами к белку OPA1; внизу количественные характеристики, отражающие соотношение оптической плотности белка OPA1 к транслоказе внешней мембраны. Данные представлены как среднее значение (\pm SD) из четырех независимых экспериментов. * — Значимое изменение по сравнению с контролем, $p < 0.05$; # — значимое изменение по сравнению с изопротеренолом, $p < 0.05$.

изопротеренола снижало активность цитохром *c*-оксидазы комплекса IV на 20% по сравнению с контролем и повышало на 47% по сравнению с изопротеренолом. Изменение активности АТФ-синтазы показано на рис. 3в. Астаксантин не изменял активность АТФ-синтазы в ММК, однако изопротеренол снижал активность АТФ-синтазы на 60% по сравнению с контролем. При совместном действии астаксантина и изопротеренола активность АТФ-синтазы не отличалась от контроля, но увеличивалась на 60% по сравнению с изопротеренолом. Астаксантин отменял эффект изопротеренола, и активность всех исследуемых комплексов повышалась.

Митохондрии млекопитающих образуют высокодинамическую ретикулярную сеть, в которой постоянно происходят события слияния и деления, при этом баланс этих двух событий влияет на контроль качества митохондрий. Слияние (fusion) опосредуется митофузином 1, митофузином 2 и белком OPA1, которые играют роль в слиянии внешней и внутренней мембран митохондрий соответственно. Родственный динамину белок 1 (DRP1) необходим для деления (fission) и

регулируется посредством фосфорилирования с помощью PKA и Cdk1/циклина B [14, 15]. Мы исследовали изменение содержания белков, участвующих в делении (DRP1) и слиянии (митофузин 2 и белок OPA1) митохондрий в наших экспериментальных условиях (рис. 4). Как видно на этом рисунке, изопротеренол повышал содержание DRP1 в 2.7 раза в ММК по сравнению с контролем, тогда как при совместном действии астаксантина и изопротеренола, уровень DRP1 повышался в два раза по сравнению с контролем (рис. 4а). Уровни митофузина 2 (рис. 4б) и белка OPA1 (рис. 4в) снижались при действии изопротеренола в два и три раза соответственно по сравнению с контролем. Астаксантин отменял эффект изопротеренола, при этом содержание митофузина 2 повышалось в два раза по сравнению с действием изопротеренола, а экспрессия белка OPA1 — на 35%.

Слияние (fusion) способствует смешению митохондрий и обеспечивает целостность и однородность митохондриальной сети, защищает от потери митохондриальной ДНК (мтДНК) и поддерживает оптимальную биоэнергетическую ак-

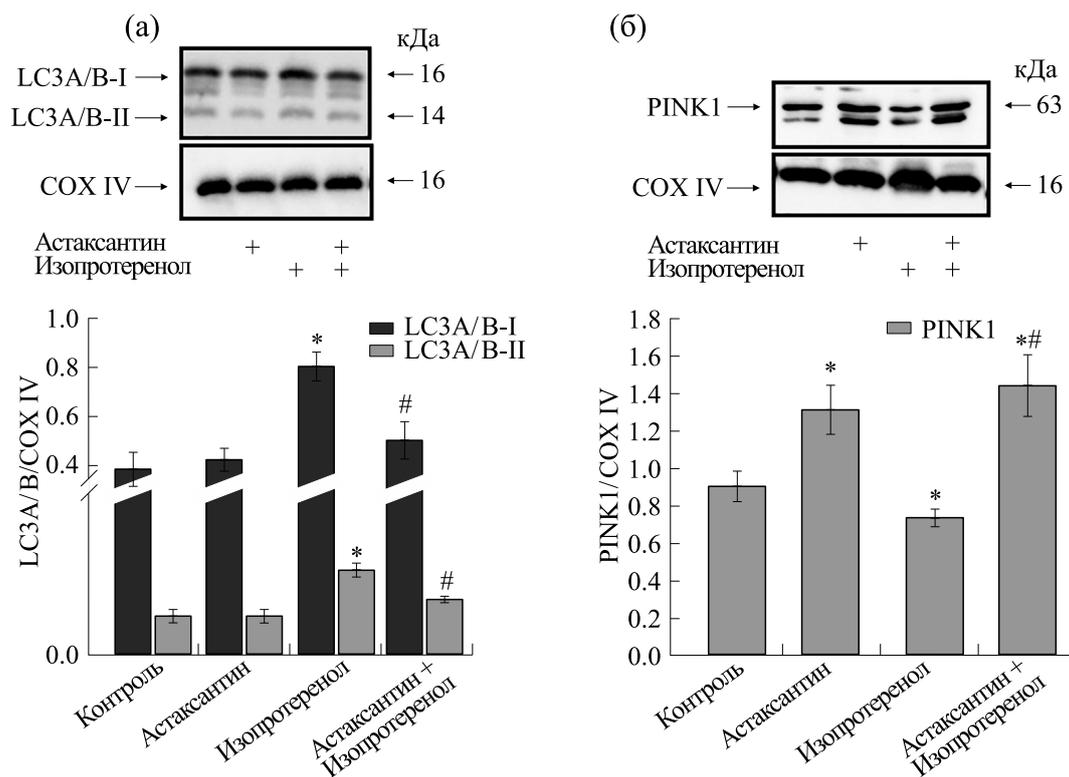


Рис. 5. Влияние астаксантина и изопротеренола на изменение содержания LC3A/B (I, II) и PINK1. Цитохром *c*-оксидазу использовали как контроль белковой нагрузки. (а) – Вверху иммуноокрашивание антителами к LC3A/B (I, II), внизу количественные характеристики, отражающие соотношение оптической плотности LC3A/B (I, II) к цитохром *c*-оксидазе. (б) – Вверху иммуноокрашивание антителами к PINK1; внизу количественные характеристики, отражающие соотношение оптической плотности PINK1 к цитохром *c*-оксидазе. Данные представлены как среднее значение \pm SD четырех независимых экспериментов. * – Значимое изменение по сравнению с контролем, $p < 0.05$; # – значимое изменение по сравнению с изопротеренолом, $p < 0.05$.

тивность. С другой стороны, деление (fission) способствует распространению и наследованию митохондрий и помогает в изоляции дисфункциональных (поврежденных) митохондрий из интактной сети и их избирательном удалении с помощью митофагии [27]. Митофагия относится к процессу селективного удаления клетками поврежденных митохондрий посредством аутофагии, что играет важную роль в «контроле качества» митохондрий и выживании клеток. Мы проанализировали влияние астаксантина на изменение маркеров аутофагии LC3A/B (I, II) и митофагии PINK1 в митохондриях мозга у крыс с изопротеренол-индуцированной митохондриальной дисфункцией (рис. 5). На рис. 5а и 5б в верхней части показан вестерн-блот белков LC3A/B (I, II) и PINK1, в нижней части – результаты денситометрического анализа. Астаксантин не изменял содержание LC3A/B (I, II), но повышал PINK1 на 40% по сравнению с контролем. Действие изопротеренола повышало содержание LC3A/B (I) и LC3A/B (II) в два раза и снижало PINK1 на 20% по сравнению с контролем. При совместном действии астаксантина и изопротеренола уровни

LC3A/B (I) и LC3A/B (II) не изменялись по сравнению с контролем и снижались на 40 и 35% соответственно по сравнению с действием изопротеренола. В этих условиях содержание PINK1 увеличивалось на 40% по сравнению с контролем и в два раза по сравнению с одним изопротеренолом.

У млекопитающих было охарактеризовано несколько рецепторов митофагии, одним из них является прохибитин 2 – белок, который имеет решающее значение в ориентировании митохондрий на аутофагическую деградацию [28]. На рис. 6 показано изменение прохибитина 2 в ММК в наших экспериментальных условиях. Содержание прохибитина 2 в ММК, изолированных из группы 2, не изменилось, тогда как при действии изопротеренола уменьшалось на 30% по сравнению с контролем. При хроническом введении астаксантина с последующей инъекцией изопротеренола уровень прохибитина 2 не изменялся по сравнению с контролем и повышался на 26% по сравнению с одним изопротеренолом.

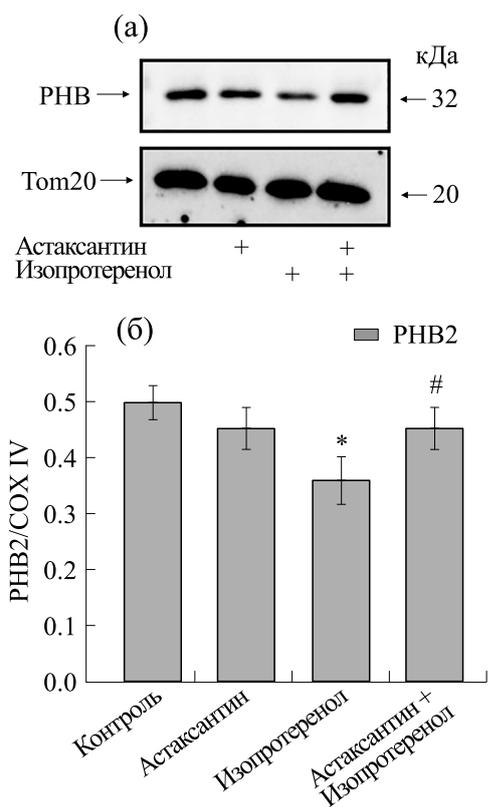


Рис. 6. Влияние астаксантина на изменение содержания прохибитина 2 при изопротеренол-индуцированной митохондриальной дисфункции. Цитохром *c*-оксидазу использовали как контроль белковой нагрузки. (а) – иммуноокрашивание антителами к прохибитину 2; (б) – количественная характеристика, отражающая соотношение оптической плотности прохибитина 2 к цитохром *c*-оксидазе. Данные представлены как среднее значение \pm SD четырех независимых экспериментов. * – $p < 0.05$ значимое изменение по сравнению с контролем, # – $p < 0.05$ значимое изменение по сравнению с изопротеренолом.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании мы изучили влияние астаксантина на функциональное состояние митохондрий головного мозга у крыс с изопротеренол-индуцированной митохондриальной дисфункцией. Изопротеренол используется в качестве модели сердечной недостаточности [13], признанной в международном научном сообществе. Ранее мы показали, что содержание таких белков, как аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, лактатдегидрогеназа, тропонин I и миоглобин, после введения изопротеренола снижалось в тканевых лизатах сердца крыс, тогда как астаксантин увеличивал уровень этих ферментов до контрольных значений [29]. Более того, при гистологическом анализе криосрезов левого желудочка сердца крысы после введения изопротеренола были выявлены признаки фиброподобных повреждений в миокарде (средняя

зона), участки сращения набухших мышечных волокон и гипертрофия миокарда. Астаксантин снижал как дегенерацию и постишемический отек мышечных волокон сердца, так и степень фиброподобного поражения миокарда, вызванной изопротеренолом [10].

Взаимодействие между нейровоспалением и сердечно-сосудистыми заболеваниями в последнее время стало предметом исследований. Нейровоспаление может быть как причиной, так и следствием сердечно-сосудистых заболеваний [30]. Более того, известно, что при неврологических повреждениях происходит активация микроглии – процесса, при котором первоначально увеличивается тело клетки [31]. В наших недавних исследованиях мы наблюдали, что количество клеток на единицу площади не изменилось во всех экспериментальных группах, однако мы заметили значительное увеличение площади МIP-областей (maximum intensity projection, проекция максимальной интенсивности), что свидетельствует об увеличении размера Iba-1-позитивных клеток микроглии. Размеры клеток микроглии значимо увеличивались у крыс после инъекции изопротеренола, а при совместном действии астаксантина и изопротеренола не отличались от контрольной группы [32]. Исходя из ранее полученных результатов, инъекция изопротеренола приводила к повреждениям как сердечной, так и мозговой тканей, в то время как астаксантин отменял действие изопротеренола, что указывает на его протекторный эффект.

Поскольку большинство важных компонентов митохондриальной электронно-транспортной цепи расположены во внутренней митохондриальной мембране, а астаксантин достаточно легко проникает через клеточную мембрану, достигая субклеточных структур, в частности митохондрий, то он способен защищать митохондриальные мембраны от окислительного повреждения [33]. Согласно результатам, полученным в настоящем исследовании, астаксантин улучшал функциональное состояние ММК, при изопротеренол-индуцированной митохондриальной дисфункции. При этом скорость входа Ca^{2+} , пороговая концентрация Ca^{2+} и активность комплексов I, IV и V дыхательной цепи повышались. Исходя из того, что Ca^{2+} считается индуктором открытия поры неспецифической проницаемости, открытие которой приводит к запуску апоптотического каскада и впоследствии к гибели клетки [34], можно заключить, что при хроническом введении астаксантина ММК были более устойчивы к формированию мРТР.

Известно, что открытие мРТР изменяет проницаемость внутренней мембраны митохондрий, что приводит к падению мембранного потенциала и деполяризации мембраны [35]. Слияние ми-

тохондрий происходит преимущественно между интактными митохондриями (с более высоким мембранным потенциалом), т.е. в процессе слияния участвуют неповрежденные митохондрии. Однако при митохондриальной дисфункции может формироваться субпопуляция неслитых митохондрий [36]. При введении изопротеренола ММК были более чувствительны к Ca^{2+} , что приводило к индукции мРТР, при этом содержание митофузина 2 и белка OPA1, ответственных за слияние соответственно внешней и внутренней мембраны митохондрий [37], снижалось, что подтверждает ранее высказанное предположение, что открытие мРТР ингибирует слияние митохондрий [38]. Напротив, введение астаксантина приводило к тому, что ММК были более устойчивыми к открытию мРТР и содержание белков увеличивалось.

Нарушения, дефекты или дисбаланс в механизмах деления и слияния способствуют митохондриальной дисфункции, которая связана со многими острыми и хроническими неврологическими расстройствами, включая инсульт, черепно-мозговую травму [39]. Повышенная экспрессия DRP1 приводит к усиленному делению и образованию митохондриальных фрагментаций, что способствует гибели нейронов после острых и хронических поражений центральной нервной системы [39, 40], однако в мозге ингибирование DRP1-зависимого деления митохондрий обеспечивает нейропротекцию [41]. В настоящем исследовании изопротеренол снижал функциональное состояние ММК при этом деление митохондрий усиливалось, а слияние снижалось, что могло привести к накоплению дисфункциональных митохондрий. Дисфункциональные митохондрии могут потерять способность к слиянию путем инактивации механизмов слияния или активации механизмов деления, чтобы предотвратить повторное включение поврежденных митохондрий в здоровую митохондриальную сеть [42]. Известно, что в условиях стресса FUNDC1, BNIP3 и NIX рекрутируют аутофагосомы в митохондрии путем прямого взаимодействия с LC3 через его домены LIR. Накопленные дисфункциональные митохондрии могут быть удалены посредством аутофагии и митофагии [43]. Мы наблюдали, что уровни маркеров аутофагии повышались при изопротеренол-индуцированном повреждении митохондрий, однако уровень маркера митофагии PINK1 при этом снижался. При совместном применении астаксантина и изопротеренола аутофагия уменьшалась, в то время как митофагия возрастала. Вероятно, в этих условиях соотношение слияния и деления восстанавливалось, уровень PINK1 повышался, поврежденные митохондрии удалялись с помощью митофагии, количество функциональных ММК повышалось, что улучшало их функциональное состояние.

Известно, что прохибитин 2 считается распространенным белком, локализованным во внутренней мембране митохондрий и играющий ключевую роль в гомеостазе клеточного энергетического метаболизма [44]. Прохибитин 2 имеет решающую роль для структурной и функциональной целостности митохондрий, модуляции митохондриальной динамики, митофагии и так называемого «контроля качества» митохондрий [28, 45]. Более того, прохибитин 2 имеет решающее значение в деградации митохондрий при аутофагии [43]. Снижение прохибитина 2 активирует резидентную протеазу во внутренней митохондриальной мембране, что приводит к расщеплению PINK1, что в конечном счете ингибирует митофагию [45]. Снижение прохибитина 2 под действием изопротеренола в ММК способствовало снижению PINK1 и, следовательно, замедлению митофагии, в то время как астаксантин восстанавливал прохибитин 2 до контрольного уровня, что приводило к повышению содержания PINK1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем исследовании мы изучили влияние астаксантина на функциональное состояние митохондрий мозга, изменение слияния/деления митохондрий и митофагию при изопротеренол-индуцированном повреждении. Изопротеренол снижал дыхательный контроль, емкость Ca^{2+} и увеличивал скорость митохондриального набухания, что говорит о повышении проницаемости митохондриальной мембраны в присутствии изопротеренола в ММК, в то время как введение астаксантина улучшало эти параметры, несмотря на инъекцию изопротеренола. Изопротеренол усиливал деление митохондрий и ингибировал слияние как внешних, так и внутренних митохондриальных мембран, при этом митофагия замедлялась. Эти события, вероятно, происходят из-за того, что в митохондриях снижается содержание прохибитина 2 – белка, рассматриваемого как рецептор митофагии [43]. Поврежденные митохондрии не удаляются митофагией, накапливаются в митохондриальной сети, и функции митохондрий нарушаются (снижается дыхательный контроль и активность комплексов (I, IV и V) дыхательной цепи, митохондрии становятся более чувствительны к открытию мРТР, ускоряется набухание митохондрий). Астаксантин увеличивает содержание прохибитина 2, что, в свою очередь, приводит к регулированию баланса деления/слияния и митофагии, восстанавливая целостность митохондриальной сети. При этом улучшается функциональное состояние митохондрий, которые становятся более устойчивыми к открытию мРТР (повышается дыхательный контроль, емкость Ca^{2+} и активность комплексов дыхательной

цепи, что приводит к замедлению открытия мРПР и ингибированию набухания митохондрий). Использование астаксантина в терапии может быть перспективным подходом для профилактики и лечения как сердечно-сосудистых заболеваний, так и мозговых нарушений.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках Государственного задания ИТЭБ РАН № 075-01025-23-00.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты проводили в соответствии с Положением о проведении исследований на экспериментальных животных (Приказ Минздрава России № 755 от 12 августа 1997 г.). Протокол одобрен Комиссией по биологической безопасности и этике Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН (протокол № 14/2023 от 8 февраля 2023 г.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Havakuk O., King K. S., Grazette L., Yoon A. J., Fong M., Bregman N., Elkayam U., and Kloner R. A. Heart Failure-Induced Brain Injury. *J. Am. Coll. Cardiol.*, **69**, 1609–1616 (2017). DOI: 10.1016/j.jacc.2017.01.022
2. Mueller K., Thiel F., Beutner F., Teren A., Frisch S., Ballarini T., Moller H. E., Ihle K., Thiery J., Schuler G., Villringer A., and Schroeter M. L. Brain Damage With Heart Failure: Cardiac Biomarker Alterations and Gray Matter Decline. *Circ. Res.*, **126**, 750–764 (2020). DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.119.315813
3. Rezin G. T., Amboni G., Zugno A. I., Quevedo J., and Streck E. L. Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorders. *Neurochem. Res.*, **34**, 1021–1029 (2009). DOI: 10.1007/s11064-008-9865-8
4. Bhatti J. S., Bhatti G. K., and Reddy P. H. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders – A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochim. Biophys. Acta – Mol. Basis Dis.*, **1863**, 1066–1077 (2017). DOI: 10.1016/j.bbdis.2016.11.010
5. Halliwell B. How to characterize an antioxidant: an update. *Biochem. Soc. Symp.*, **61**, 73–101 (1995). DOI: 10.1042/bss0610073
6. Regnier P., Bastias J., Rodriguez-Ruiz V., Caballero-Casero N., Caballo C., Sicilia D., Fuentes A., Maire M., Crepin M., Letourneur D., Gueguen V., Rubio S., and Pavon-Djavid G. Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* Prevents Oxidative Stress on Human Endothelial Cells without Toxicity. *Mar. Drugs*, **13**, 2857–2874 (2015). DOI: 10.3390/md13052857
7. Higuera-Ciapara I., Felix-Valenzuela L., and Goycoolea F. M. Astaxanthin: a review of its chemistry and applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **46**, 185–196 (2006). DOI: 10.1080/10408690590957188
8. Kim S. H. and Kim H. Inhibitory Effect of Astaxanthin on Oxidative Stress-Induced Mitochondrial Dysfunction – A Mini-Review. *Nutrients*, **10** (9), 1137 (2018) DOI: 10.3390/nu10091137
9. Baburina Y., Krestinin R., Odinkova I., Sotnikova L., Kruglov A., and Krestinina O. Astaxanthin Inhibits Mitochondrial Permeability Transition Pore Opening in Rat Heart Mitochondria. *Antioxidants (Basel)*, **8**, 576 (2019). DOI: 10.3390/antiox8120576
10. Krestinin R., Baburina Y., Odinkova I., Kruglov A., Fadeeva I., Zvyagina A., Sotnikova L., and Krestinina O. Isoproterenol-Induced Permeability Transition Pore-Related Dysfunction of Heart Mitochondria Is Attenuated by Astaxanthin. *Biomedicines*, **8** (10), 437 (2020). DOI: 10.3390/biomedicines8100437
11. Krestinina O., Baburina Y., Krestinin R., Odinkova I., Fadeeva I., and Sotnikova L. Astaxanthin Prevents Mitochondrial Impairment Induced by Isoproterenol in Isolated Rat Heart Mitochondria. *Antioxidants (Basel)*, **9**, 262 (2020). DOI: 10.3390/antiox9030262
12. Galasso C., Orefice I., Pellone P., Cirino P., Miele R., Ianora A., Brunet C., and Sansone C. On the Neuroprotective Role of Astaxanthin: New Perspectives? *Mar. Drugs*, **16**, 247 (2018). DOI: 10.3390/md16080247
13. Akila P., Asaikumar L., and Vennila L. Chlorogenic acid ameliorates isoproterenol-induced myocardial injury in rats by stabilizing mitochondrial and lysosomal enzymes. *Biomed. Pharmacother.*, **85**, 582–591 (2017). DOI: 10.1016/j.biopha.2016.11.067
14. Twig G. and Shirihai O. S. The interplay between mitochondrial dynamics and mitophagy. *Antioxid Redox Signal.*, **14**, 1939–1951 (2011). DOI: 10.1089/ars.2010.3779
15. Cribbs J. T. and Strack S. Reversible phosphorylation of Drp1 by cyclic AMP-dependent protein kinase and calcineurin regulates mitochondrial fission and cell death. *EMBO Rep.*, **8**, 939–944 (2007). DOI: 10.1038/sj.embor.7401062
16. Zhao X. Y., Lu M. H., Yuan D. J., Xu D. E., Yao P. P., Ji W. L., Chen H., Liu W. L., Yan C. X., Xia Y. Y., Li S., Tao J., and Ma Q. H. Mitochondrial Dysfunction in Neural Injury. *Front. Neurosci.*, **13**, 30 (2019). DOI: 10.3389/fnins.2019.00030
17. Taylor R. and Goldman S. J. Mitophagy and disease: new avenues for pharmacological intervention. *Curr. Pharm. Des.*, **17**, 2056–2073 (2011). DOI: 10.2174/138161211796904768
18. Ding W. X. and Yin X. M. Mitophagy: mechanisms, pathophysiological roles, and analysis. *Biol. Chem.*, **393**, 547–564 (2012). DOI: 10.1515/hsz-2012-0119
19. Jin M., Liu X., and Klionsky D. J. SnapShot: Selective autophagy. *Cell*, **152**, 368–368 (2013). e362, DOI: 10.1016/j.cell.2013.01.004

20. Mijaljica D., Prescott M., and Devenish R. *Mitophagy: An Overview*. In *Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging*, Ed. by M. A. Hayat (Acad. Press, 2014), pp. 103–116. DOI: 10.1016/B978-0-12-405528-5.00005-5
21. Ambati R. R., Phang S. M., Ravi S., and Aswathanarayana R. G. Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications—a review. *Mar. Drugs*, **12**, 128–152 (2014). DOI: 10.3390/md12010128
22. Sims N. R. Rapid isolation of metabolically active mitochondria from rat brain and subregions using Percoll density gradient centrifugation. *J. Neurochem.*, **55**, 698–707 (1990).
23. Baburina Y. L., Gordeeva A. E., Moshkov D. A., Krestinina O. V., Azarashvili A. A., Odinkova I. V., and Azarashvili T. S. Interaction of myelin basic protein and 2',3'-cyclic nucleotide phosphodiesterase with mitochondria. *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 555–565 (2014). DOI: 10.1134/S0006297914060091
24. Azarashvili T., Grachev D., Krestinina O., Evtodienko Y., Yurkov I., Papadopoulos V., and Reiser G. The peripheral-type benzodiazepine receptor is involved in control of Ca²⁺-induced permeability transition pore opening in rat brain mitochondria. *Cell Calcium*, **42**, 27–39 (2007). DOI: 10.1016/j.ceca.2006.11.004
25. Baburina Y., Azarashvili T., Grachev D., Krestinina O., Galvita A., Stricker R., and Reiser G. Mitochondrial 2', 3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP) interacts with mPTP modulators and functional complexes (I-V) coupled with release of apoptotic factors. *Neurochem. Int.*, **90**, 46–55 (2015). DOI: 10.1016/j.neuint.2015.07.012
26. Jha P., Wang X., and Auwerx J. Analysis of Mitochondrial Respiratory Chain Supercomplexes Using Blue Native Polyacrylamide Gel Electrophoresis (BN-PAGE). *Curr. Protoc. Mouse Biol.*, **6**, 1–14 (2016). DOI: 10.1002/9780470942390.mo150182
27. Escobar-Henriques M. and Anton F. Mechanistic perspective of mitochondrial fusion: tubulation vs. fragmentation. *Biochim. Biophys. Acta*, **1833**, 162–175 (2013). DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.07.016
28. Wei Y., Chiang W. C., Sumpter R., Jr., Mishra P., and Levine B. Prohibitin 2 Is an Inner Mitochondrial Membrane Mitophagy Receptor. *Cell*, **168**, 224–238.E1–E6 (2017). DOI: 10.1016/j.cell.2016.11.042
29. Baburina Y., Krestinin R., Odinkova I., Fadeeva I., Sotnikova L., and Krestinina O. The Identification of Prohibitin in the Rat Heart Mitochondria in Heart Failure. *Biomedicines*, **9** (12), 1793 (2021). DOI: 10.3390/biomedicines9121793
30. Richards E. M., Li J., Stevens B. R., Pepine C. J., and Raizada M. K. Gut Microbiome and Neuroinflammation in Hypertension. *Circ. Res.*, **130**, 401–417 (2022). DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.121.319816
31. Kettenmann H., Hanisch U. K., Noda M., and Verkhratsky A. Physiology of microglia. *Physiol. Rev.*, **91**, 461–553 (2011). DOI: 10.1152/physrev.00011.2010
32. Baburina Y., Krestinin R., Fedorov D., Odinkova I., Pershina E., Sotnikova L., and Krestinina O. The Improvement of Functional State of Brain Mitochondria with Astaxanthin in Rats after Heart Failure. *Int. J. Mol. Sci.*, **24**, 31 (2022). DOI: 10.3390/ijms24010031
33. Nishida Y., Nawaz A., Hecht K., and Tobe K. Astaxanthin as a Novel Mitochondrial Regulator: A New Aspect of Carotenoids, beyond Antioxidants. *Nutrients*, **14**, 107 (2021). DOI: 10.3390/nu14010107
34. Kinnally K. W. and Antonsson B. A tale of two mitochondrial channels, MAC and PTP, in apoptosis. *Apoptosis*, **12**, 857–868 (2007). DOI: 10.1007/s10495-007-0722-z
35. Kwong J. Q. and Molkentin J. D. Physiological and pathological roles of the mitochondrial permeability transition pore in the heart. *Cell Metab.*, **21**, 206–214 (2015). DOI: 10.1016/j.cmet.2014.12.001
36. Twig G., Elorza A., Molina A. J., Mohamed H., Wikstrom J. D., Walzer G., Stiles L., Haigh S. E., Katz S., Las G., Alroy J., Wu M., Py B. F., Yuan J., Deeney J. T., Corkey B. E., and Shirihai O. S. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. *EMBO J.*, **27**, 433–446 (2008). DOI: 10.1038/sj.emboj.7601963
37. Hom J. and Sheu S. S. Morphological dynamics of mitochondria—a special emphasis on cardiac muscle cells. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, **46**, 811–820 (2009). DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.02.023
38. Gazaryan I. G. and Brown A. M. Intersection between mitochondrial permeability pores and mitochondrial fusion/fission. *Neurochem. Res.*, **32**, 917–929 (2007). DOI: 10.1007/s11064-006-9252-2
39. Burte F., Carelli V., Chinnery P. F., and Yu-Wai-Man P. Disturbed mitochondrial dynamics and neurodegenerative disorders. *Nat. Rev. Neurol.*, **11**, 11–24 (2015). DOI: 10.1038/nrneuro.2014.228
40. Reddy P. H., Reddy T. P., Manczak M., Calkins M. J., Shirendeb U., and Mao P. Dynamin-related protein 1 and mitochondrial fragmentation in neurodegenerative diseases. *Brain Res. Rev.*, **67**, 103–118 (2011). DOI: 10.1016/j.brainresrev.2010.11.004
41. Cui M., Ding H., Chen F., Zhao Y., Yang Q., and Dong Q. Mdivi-1 Protects Against Ischemic Brain Injury via Elevating Extracellular Adenosine in a cAMP/CREB-CD39-Dependent Manner. *Mol. Neurobiol.*, **53**, 240–253 (2016). DOI: 10.1007/s12035-014-9002-4
42. Youle R. J. and van der Bliek A. M. Mitochondrial fission, fusion, and stress. *Science*, **337**, 1062–1065 (2012). DOI: 10.1126/science.1219855
43. Li W., He P., Huang Y., Li Y. F., Lu J., Li M., Kurihara H., Luo Z., Meng T., Onishi M., Ma C., Ji-ang L., Hu Y., Gong Q., Zhu D., Xu Y., Liu R., Liu L., Yi C., Zhu Y., Ma N., Okamoto K., Xie Z., Liu J., He R.-R., and Feng D. Selective autophagy of intracellular organelles: recent research advances. *Theranostics*, **11**, 222–256 (2021). DOI: 10.7150/thno.49860
44. Tatsuta T., Model K., and Langer T. Formation of membrane-bound ring complexes by prohibitins in mi-

- tochondria. *Mol. Biol. Cell*, **16**, 248–259 (2005). DOI: 10.1091/mbc.e04-09-0807
45. Yan C., Gong L., Chen L., Xu M., Abou-Hamdan H., Tang M., Desaubry L., and Song Z. PHB2 (prohibitin 2) promotes PINK1-PRKN/Parkin-dependent mitophagy by the PARL-PGAM5-PINK1 axis. *Autophagy*, **16**, 419–434 (2020). DOI: 10.1080/15548627.2019.1628520

Astaxanthin Prevents Dysregulation of Mitochondrial Dynamics in Rat Brain Mitochondria Induced under Isoproterenol-Induced Injury

R.R. Krestinin*, Yu.L. Baburina*, I.V. Odinkova*, L.D. Sotnikova*, and O.V. Krestinina*

**Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Institutskaya ul. 3, Pushchino, Moscow Region, 142290 Russia*

Mitochondria are involved in the development of diseases with different etiologies. The use of drugs which can enhance the functional state of mitochondria may turn into a promising therapeutic approach to diseases with different etiologies. Astaxanthin, a keto-carotenoid (xanthophyll) predominantly of marine origin, shows both lipophilic and hydrophilic properties and can penetrate the cell membrane to localize to mitochondria where it prevents mitochondrial dysfunction. This study examined the effect of astaxanthin on the functional state of rat brain mitochondria, investigated the changes in mitochondrial dynamics and mitophagy under isoproterenol-induced injury. In the presence of astaxanthin, mitochondria were more resistant to Ca^{2+} -induced opening of a nonspecific pore, and the activity of complexes I, IV and V of the respiratory chain increased. Moreover, the presence of astaxanthin led to altered mitochondrial fission and fusion as well as mitophagy, in isoproterenol-induced mitochondrial dysfunction. This presumably increased the quantity of rat brain mitochondria and enhanced their functional state. Astaxanthin can be considered as a mitochondria-targeted agent in therapy in pathological conditions associated with oxidative damage and mitochondrial dysfunction caused by acute heart failure. Astaxanthin as a dietary supplement has the potential to provide antioxidant protection to cells in cardiovascular disease.

Keywords: astaxanthin, isoproterenol-induced mitochondrial dysfunction, mitophagy, mitochondrial dynamics