

## ВЛИЯНИЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЛУТАМАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ГИППОКАМПА

Аксёнова С.В., Батова А.С., Бугай А.Н., Душанов Э.Б.

Объединенный институт ядерных исследований

ул. Жюлио Кюри, 6, г. Дубна, 141980, РФ; e-mail: kgyr@mail.ru

Поступила в редакцию 15.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0602

**Аннотация.** В настоящей работе предложен модельный подход для анализа свойств нейронных сетей гиппокампа, содержащих модифицированные глутаматные рецепторы. Было проведено молекулярно-динамическое моделирование рецепторов NMDA и AMPA, содержащих в своей структуре повреждения, вызванные действием свободных радикалов. Изучение сетевой активности нейронов с измененной структурой рецепторов проводилось в модели нейронной сети CA3 области гиппокампа. В результате исследования свойств нейронной сети гиппокампа с модифицированной структурой глутаматных рецепторов получены электрофизиологические характеристики известной модели нейронной сети в зависимости от строения ионного канала рецептора. Исходя из анализа изменения проводимостей ионного канала были выявлены различия в амплитуде тета- и гамма-частотных диапазонов в нейронных сетях с различными модельными структурами AMPA- и NMDA-рецепторов. В ходе анализа сетевой активности нейронов были выявлены изменения проводимости ионного канала глутаматных рецепторов и локального потенциала в зависимости от типа повреждения. При значительном снижении проводимости ионного канала глутаматного рецептора в нейронной сети наблюдается падение амплитуды тета-частотных и возрастание гамма-частотных диапазонов. В случае повреждения TYR731 и CYS765 NMDA-рецептора в нейронной сети имеет место увеличение амплитуды тета- и гамма-частотных диапазонов.

**Ключевые слова:** гиппокамп, рецептор NMDA, болезнь Альцгеймера, молекулярная динамика, нейронная сеть.

### ВВЕДЕНИЕ

Гиппокамп представляет собой центр управления памятью, который имеет решающее значение при хранении и последующем извлечении событий повседневной жизни для формирования поведения в будущем. Глутаматные рецепторы принимают непосредственное участие в координировании активности сетей нейронов гиппокампа при кодировании, консолидации и извлечении воспоминаний [1,2]. Дисфункция рецепторов глутамата наблюдается при когнитивных нарушениях и ментальных заболеваниях. Понимание механизмов нарушения синаптической пластичности вследствие оксидативного стресса в структурах мозга, связанных с обучением и хранением информации, необходимо для улучшения терапевтических подходов при лечении неврологических расстройств, связанных с потерей памяти.

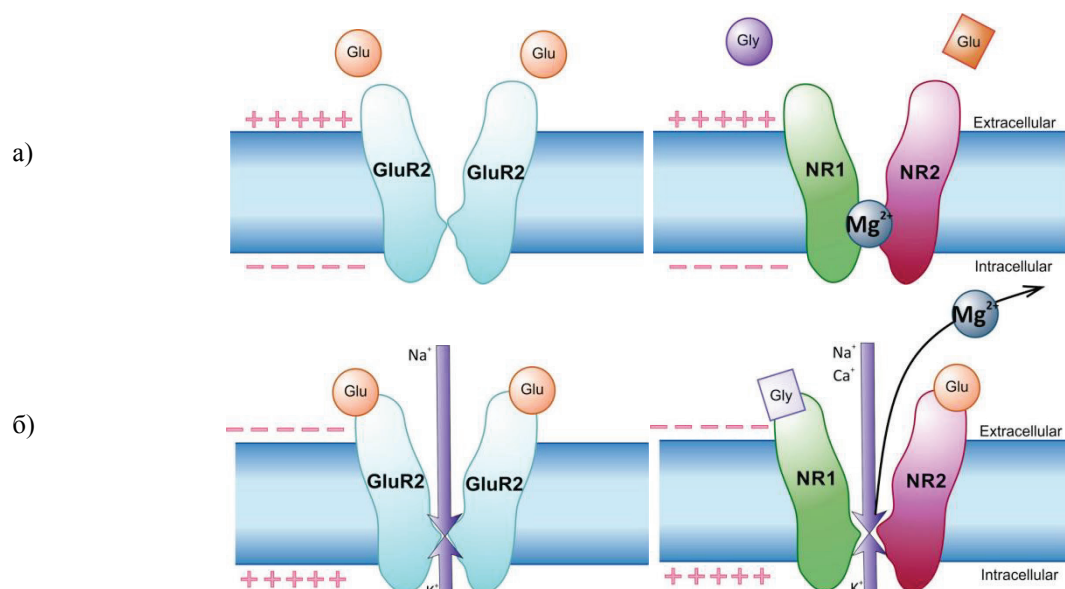
Рецепторы NMDA и AMPA представляют собой два основных типа ионотропных рецепторов глутамата, участвующих в синаптической передаче [3]. Глутаминовая кислота является главным возбуждающим нейротрансмиттером в центральной нервной системе (ЦНС), который взаимодействует как с ионотропными, так и метаболотропными рецепторами [4].

Ионотропные рецепторы глутамата, ответственные за быструю нейронную коммуникацию в возбуждающих синапсах, включают три подсемейства: рецепторы  $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты (AMPA), каинатные рецепторы и NMDA. Рецепторы NMDA являются подклассом глутаматных рецепторов, для активации которых требуется как связывание глутамата, так и постсинаптическая деполаризация, которая опосредует проникновение  $Ca^{2+}$  при их активации (рис. 1).

NMDA-рецепторы имеют решающее значение для развития центральной нервной системы, генерации ритмов дыхания, передвижения, а также процессов, лежащих в основе обучения, памяти и нейропластичности. Аномальные уровни экспрессии и измененная функция рецепторов NMDA вовлечены в многочисленные неврологические расстройства и патологические состояния, включая депрессию, шизофрению, болезнь Альцгеймера и аутоиммунный анти-NMDA-рецепторный энцефалит [5,6]. Гипофункция NMDA может привести к когнитивным дефектам, тогда как чрезмерная стимуляция вызывает эксайтотоксичность и последующую нейродегенерацию [7].

**Оксидативный стресс.** Процессы оксидативного стресса могут активироваться на фоне развития дисбаланса в нейротрансмиттерной системе [3, 4]. С наибольшей вероятностью в белковых молекулах при окислительном стрессе наблюдается модификация цистеина ( $Cys \rightarrow Ocs$ , сульфоновая кислота), метионина ( $Met \rightarrow Omt$ , метионин сульфон), тирозина ( $Tyr \rightarrow Niy/3ct$ , 3-нитротирозин/3-хлортирозин), гистидина ( $His \rightarrow Ohi$ , 2-оксо-гистидин) и триптофана ( $Trp \rightarrow 4pq/Oia$ , 5-гидроксириптофан/оксиндол-аланин) [8].

Для оценки воздействия свободных радикалов на структуру глутаматных рецепторов было проведено молекулярно-динамическое моделирование рецепторов NMDA и AMPA, имеющих в своей структуре



**Рисунок 1.** Активация глутаматных рецепторов AMPA GluR2 и NMDA NR1/NR2B: а) рецепторы в неактивном состоянии, б) рецепторы в активной конформации

повреждения тирозина Tyr731, 732 и цистеина Cys765, 819, 718, 773 в активной конформации. В качестве исходных трёхмерных моделей были выбраны структуры 6WHT и 6DM1, в активном конформационном состоянии, из базы PDB (табл. 1, рис. 2).

**Целью настоящей работы** является исследование влияния оксидативного стресса на функционирование глутаматных рецепторов и сетевую активность нейронов гиппокампа. Разработанный вычислительный подход позволяет произвести анализ различных структур глутаматных рецепторов, оценить их электрофизиологические свойства на примере моделей нейронных сетей гиппокампа [9] и воспроизвести паттерны электроэнцефалограммы (ЭЭГ).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для оценки воздействия свободных радикалов на структуру глутаматных рецепторов было проведено молекулярно-динамическое моделирование различных типов рецепторов AMPA и NMDA в активной конформации (табл. 1).

Моделирование влияния оксидативного стресса на глутаматные рецепторы проводилось в несколько этапов (рис. 3). Первоначальным этапом было восстановление недостающих аминокислотных остатков в трёхмерной структуре глутаматных рецепторов с помощью программного пакета MODELLER 10.3. Построение липидного бислоя и сольватирование выполнено в среде Charmm-GUI. Молекулярно-динамическое моделирование проводилось в среде GROMACS версии 5.13.

Исходя из анализа проводимости ионных каналов и распределения ионов магния в каналах рецепторов NMDA, было изучено поведение нейронной сети с каждым типом рецептора NMDA и AMPA, произведен расчёт локального потенциала и определены значения коллективных колебаний (ритмов) нейронной сети гиппокампа. Изучение сетевой активности нейронов с различными типами рецепторов NMDA проводилось в моделях нейронных сетей CA3 [9] области гиппокампа (рис. 5). Для изучения поведений нейронной сети применялся пакет NEURON [10]. Наибольший интерес представляет исследование  $\theta$ - и  $\gamma$ -ритмов мозга, т.к. они оказывают определяющее влияние на формирование памяти. Гиппокамп вносит наибольший вклад в их генерацию.

В ходе моделирования проводился анализ радиуса ионного канала. Благодаря расчетам удалось визуализировать зависимость радиуса канала  $r$  от координаты  $z$  вдоль оси симметрии рецептора, перпендикулярной мембране. Используемая зависимость была использована при расчете отношения проводимостей для различных типов глутаматных рецепторов (табл. 2).

**Таблица 1.** Номера модифицированных а.о. в рецепторах и их процентное соотношение

Тип повреждения	AMPA (6DM1)		NMDA (6WHT)	
	Модифиц. а.о	Соотношение	Модифиц. а.о	Соотношение
<b>Cys → Ocs</b>	718, 773	3,13%	765, 819 (NR1)	4,17%
<b>Tyr → Niy</b>	732	1,14%	731 (NR2)	1,69%
	Организм	Система экспрессии	Организм	Система экспрессии
	<i>Rattus norvegicus</i> <i>Homo sapiens</i>	<i>Homo sapiens</i>	<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Spodoptera frugiperda</i>
PDB DOI	10.1016/j.neuron.2018.07.027		10.1016/j.cell.2020.05.052	

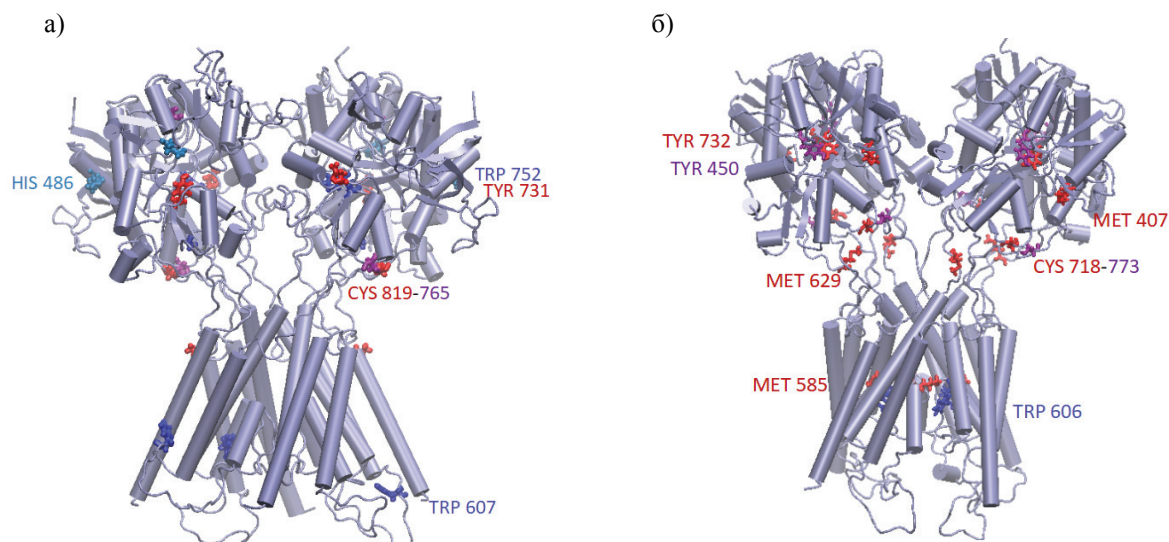


Рисунок 2. Локализация модифицированных а.о. в структурах а) 6WHT и б) 6DM1

Построение геометрии ионного канала было выполнено при помощи пакета HOLE v2.2.005 (рис. 4). Исходя из предположения, что радиус канала прямо пропорционален проводимости, были определены изменения в электрофизиологических характеристиках сети гиппокампа. Для вычисления локального потенциала нейронной популяции и спектров мощности сигнала ЭЭГ параметры кода NEURON из модели [9] были изменены соответствующим образом.

Ионный ток через единственный глутаматный рецептор ( $I_{NMDA}$  – ток через рецептор NMDA,  $I_{AMPA}$  – ток через рецептор AMPA) в модели нейронной сети [9] представлен в виде

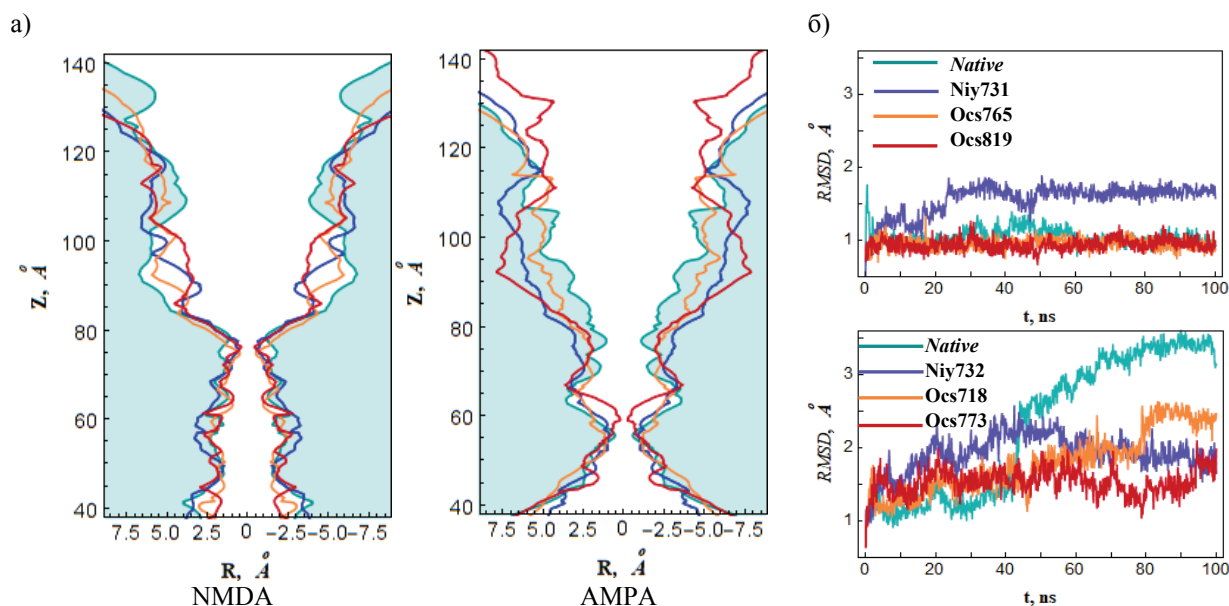
$$I_{NMDA} = \frac{G_{NMDA} P (V_{pre})(V - V_e)}{1 + c[Mg^{2+}] \exp[-qV]}, \quad (1)$$

$$I_{AMPA} = G_{AMPA} (V - V_e), \quad (2)$$

где  $G_{NMDA}$  – максимальная проводимость рецептора NMDA для определенного типа иона, в нашем случае токи иона  $Na^+$ ;  $G_{AMPA}$  – максимальная проводимость рецептора AMPA;  $P$  – вероятность открытия канала в зависимости



Рисунок 3. Схема этапов моделирования влияния оксидативного стресса на функционирование глутаматных рецепторов



**Рисунок 4.** а) Изменения геометрии каналов глутаматных рецепторов в зависимости от модификации а.о. оксидантами. NMDA: зелёный – *native*, синий – Niy731, жёлтый – Ocs765, красный – Ocs819. AMPA: зелёный – *native*, синий – Niy732, жёлтый – Ocs718, красный – Ocs773. б) Среднеквадратичные отклонения остовых атомов мотива SYTANLAAF ионного канала глутаматных рецепторов, модифицированных оксидантами. Сверху – NMDA 6WHT, снизу – AMPA 6DM1

от пресинаптического потенциала  $V_{pre}$  и макроскопическая кинетика состояний рецептора;  $V$  – постсинаптический мембранный потенциал с равновесным напряжением  $V_e$ ,  $c$  и  $q$  – феноменологические константы. Последние два параметра отражают связывание магния и электрохимические свойства, соответственно. Эти параметры обычно получают из экспериментальных данных.

Чтобы оценить разницу между проводимостью открытого ионного канала рецептора нативной и смоделированной форм белка, применялось следующее предположение: если радиус канала зависит от координаты  $z$  вдоль оси симметрии рецептора, которая перпендикулярна мембране, то проводимость  $G$  канала можно оценить по следующей формуле:

$$\frac{1}{G} = \int_0^L \frac{dz}{\pi \sigma r^2(z)}, \quad (3)$$

где  $\sigma$  – ионная проводимость цитозоля;  $L$  и  $r$  – длина ионного канала и эффективный радиус поры соответственно. Таким образом, соотношение проводимости нативной  $G_{nat}$  и смоделированной форм  $G_{mod}$  оценивали по следующей формуле:

$$\frac{G_{mod}}{G_{nat}} = \int_0^L \frac{dz}{r_{nat}^2} / \int_0^L \frac{dz}{r_{mod}^2}. \quad (4)$$

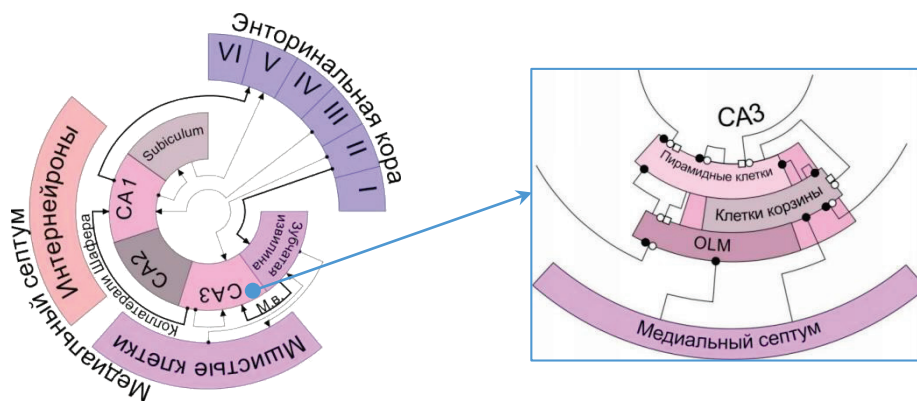
Зависимости  $r(z)$  в (3) и (4) были восстановлены с использованием расчетов при помощи программы HOLE для нативной формы рецепторов и каждой из смоделированных форм.

## РЕЗУЛЬТАТЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ

Молекулярно-динамические расчёты показали, что проводимость ионного канала модифицированных форм рецепторов NMDA менялась незначительно, в то время как в случае AMPA-рецепторов проводимость существенно снижалась.

**Таблица 2.** Соотношение проводимости  $G$  поврежденного рецептора NMDA и AMPA к проводимости  $G_b$  неповрежденного рецепторного канала NMDA и AMPA

Мод.	NMDA			AMPA		
	Tyr731→Niy7	Cys765→Ocs7	Cys819→Ocs8	Tyr732→Niy7	Cys718→Ocs7	Cys773→Ocs7
	31	65	19	32	18	73
$G/G_b$	0,918	1,071	0,980	0,409	0,546	0,473



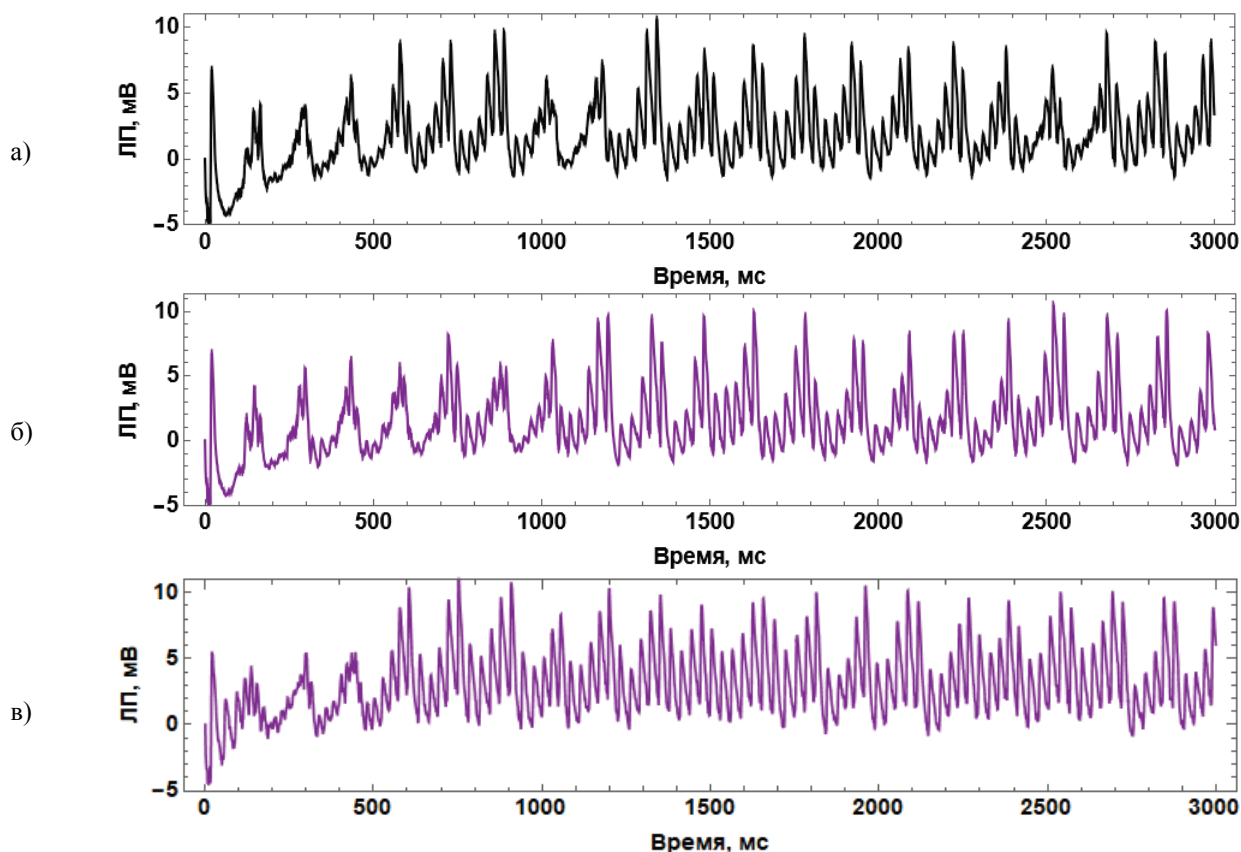
**Рисунок 5.** Нейронная сеть гиппокампа [11]. Справа схема модели нейронной сети из [9], области CA3 гиппокампа, состоящей из 1200 нейронов (пирамидальные клетки - 800, корзинчатые интернейроны - 200, OLM интернейроны - 200) и 152 000 синапсов. Закрашенные окружности – GABA<sub>A</sub> рецепторы, пустые окружности – AMPA рецепторы, пустые прямоугольники – NMDA рецепторы

Влияние различных повреждений глутаматных рецепторов на динамику нейросетей гиппокампа (рис. 5) оценивалось по спектрам мощности, отражающим выраженность того или иного частотного диапазона генерируемых осцилляций. Рассмотрены два частотных диапазона: тета (4-8 Гц) и гамма (30-60 Гц).

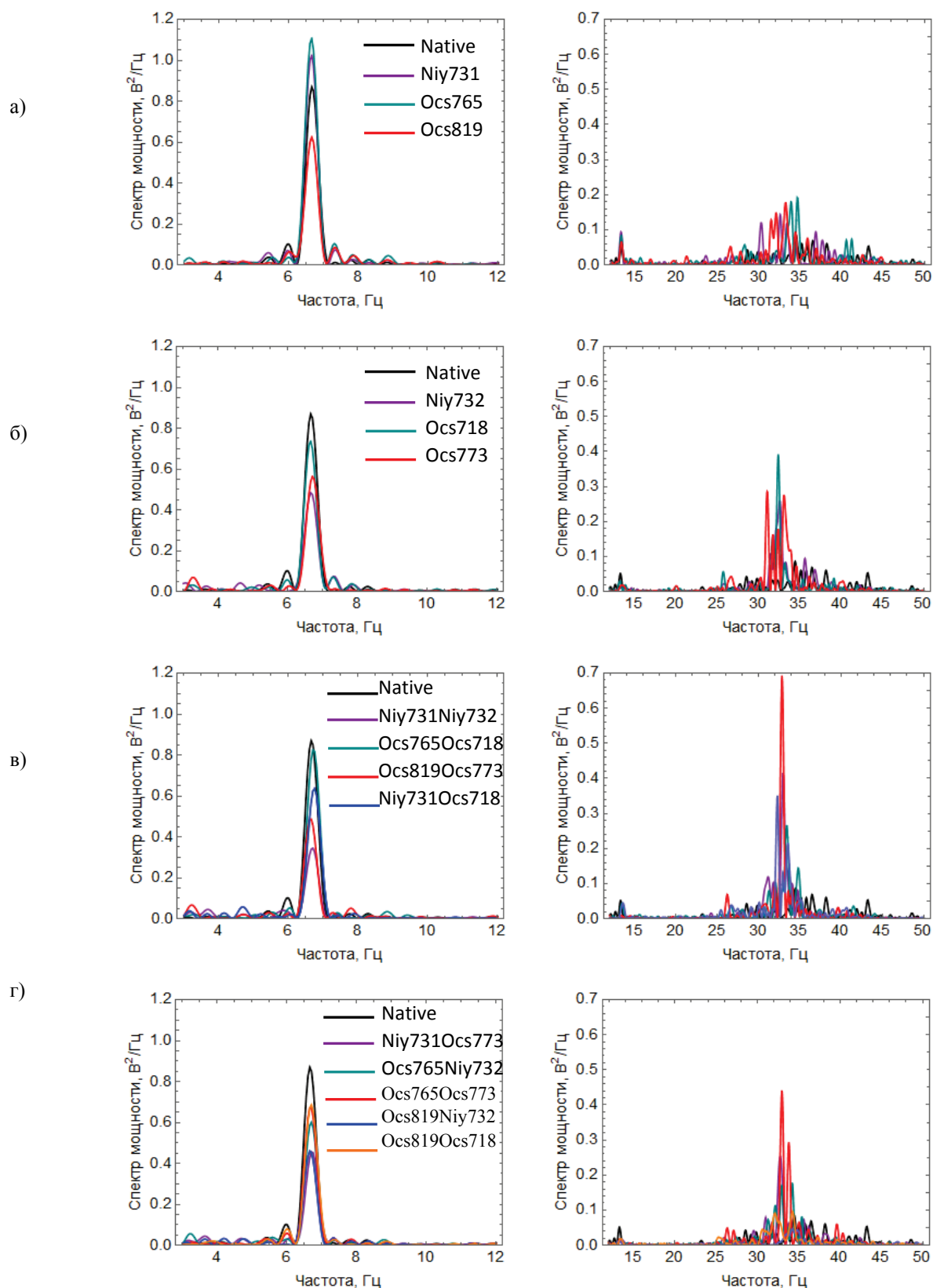
Модель [9] воспроизводит базовые тета-модулированные гамма-колебания локального потенциала (ЛП), наблюдаемые экспериментально. Мы проанализировали изменения локального потенциала, вызванные нарушением проводимости глутаматных рецепторов (рис. 6).

Спектральный анализ сигнала производился с помощью прямого Фурье-преобразования функции, описывающей локальный потенциал. Были получены спектры мощности сигнала ЭЭГ для модели сети нейронов, содержащей поврежденные рецепторы NMDA и AMPA (рис. 7).

Оксидативный стресс приводит к формированию модифицированных а.о. в структуре глутаматных рецепторов, изменяя их свойства рецепторов и поведение в нейронной сети. В данной работе проведено молекулярно-динамическое моделирование рецепторов AMPA и NMDA, имеющих в своей структуре модифицированные а. о. В ходе анализа сетевой активности нейронов были выявлены изменения проводимости ионного канала глутаматных рецепторов и локального потенциала в зависимости от типа повреждения. В случае



**Рисунок 6.** Локальный потенциал нейронной популяции модели сети из [9], содержащей поврежденные рецепторы NMDA и AMPA: а) – native, б) Niy731, в) Ocs819Ocs773



**Рисунок 7.** Частотный спектр осцилляций  $\theta$  и  $\gamma$ -ритмов для модели нейронной сети Neumotin et al., содержащей поврежденные рецепторы а) NMDA (черный – *native*, фиолетовый – Niy731, зеленый – Ocs765, красный – Ocs819); б) AMPA (черный – *native*, фиолетовый – Niy732, зеленый – Ocs718, красный – Ocs773); в) NMDA и AMPA (черный – *native*, фиолетовый – Niy731Niy732, зеленый – Ocs765Ocs718, красный – Ocs819Ocs773, Niy731Ocs718); г) NMDA и AMPA (фиолетовый – Niy731Ocs773, зеленый – Ocs765Niy732, красный – Ocs765Ocs773, синий – Ocs819Niy732, жёлтый – Ocs819Ocs718)

повреждения Tyr731 и Cys765 NMDA-рецептора в модели нейронной сети [9] наблюдается возрастание амплитуды тета- и гамма-частотных диапазонов. При модификации Cys819 рецепторов NMDA в поведении нейронной сети имеет место снижение тета-частоты и увеличение частоты гамма-диапазона. Изменения ритмов модели сети гиппокампа, содержащей поврежденные рецепторы AMPA, были связаны со снижением амплитуды тета- и возрастанием гамма-частотных диапазонов по сравнению с сетью, содержащей нативные формы рецепторов.

Согласно результатам моделирования, повреждения в структуре рецепторов способны привести к изменению фазового соотношения возбуждения клеток. Более низкая активность OLM-клеток модели [9] приводит к снижению амплитуды тета-ритма и затормаживает пирамидные клетки, что приводит к увеличению активности корзинчатых клеток и росту гамма-мощности. Аномалии колебаний ритмов гиппокампа проявляются при различных патологиях. Высокая мощность гамма-ритма коррелирует со снижением передачи информации от синаптических входов к пирамидальным нейронам, что может нарушить передачу информации через гиппокамп в кору головного мозга или из нее [12].

#### **Список литературы / References:**

1. Sosa M., Gillespie A.K., Loren M., Frank L.M. Neural Activity Patterns Underlying Spatial Coding in the Hippocampus. *Curr Top Behav Neurosci.*, 2018, vol. 37, pp. 43-100, doi: 10.1007/7854\_2016\_462.
2. Cravens C.J., Vargas-Pinto N., Christian K.M., Nakazawa K. CA3 NMDA receptors are crucial for rapid and automatic representation of context memory. *EJN*, 2006, vol. 24, pp. 1771-1780, doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.05044.x.
3. Huang S., Chen L., Bladen Chr., Stys P.K., Zamponi G.W. Differential modulation of NMDA and AMPA receptors by cellular prion protein and copper ions. *Molecular Brain*, 2018, vol. 11, no. 62, doi: 10.1186/s13041-018-0406-3.
4. Flores-Soto M.E., Chaparro-Huerta V., Escoto-Delgadillo M., Vazquez-Valls E., González-Castañeda R.E., Beas-Zarate C. Structure and function of NMDA-type glutamate receptor subunits. *Neurología*, 2012, vol. 27, no. 5, pp. 301-310, doi: 10.1016/j.nrleng.2011.10.003.
5. Wang C.C. et al. A critical role for GluN2B-containing NMDA receptors in cortical development and function. *Neuron*, 2011, vol. 72, pp. 789-805, doi: 10.1016/j.neuron.2011.09.023.
6. Kumar A. NMDA Receptor Function During Senescence: Implication on Cognitive Performance. *Front. Neurosci.*, 2015, doi: 10.3389/fnins.2015.00473.
7. Blanke M.L., VanDongen A.M.J. Activation Mechanisms of the NMDA Receptor. *Biology of the NMDA Receptor*, 2009, chap. 13.
8. Sahoo N., Hoshi T., Heinemann S.H. Oxidative Modulation of Voltage-Gated Potassium Channels. *Antioxid Redox Signal.*, 2014, vol. 21, no. 6, pp. 933-952, doi: 10.1089/ars.2013.5614.
9. Neymotin S.A. et al. Ketamine disrupts theta modulation of gamma in a computer model of hippocampus. *J. Neurosci.*, 2011, vol. 31, pp. 11733-11743, doi: 10.1523/JNEUROSCI.0501-11.2011.
10. Hines M.L., Carnevale N.T. The NEURON simulation environment. *Neural Comput.*, 1997, vol. 9, pp. 1179-1209, doi: 10.1162/neco.1997.9.6.1179.
11. Deng W., Aimone J.B., Gage F.H. New neurons and new memories: how does adult hippocampal neurogenesis affect learning and memory? *Nat Rev Neurosci.*, 2010, vol. 11, no. 5, pp. 339-350.
12. Parnas J., Bovet P., Zahavi D. Schizophrenic autism: clinical phenomenology and pathogenetic implications. *World Psychiatry*, 2002, vol. 1, pp. 131-136.

## EFFECT OF OXIDATIVE STRESS ON THE FUNCTIONING OF GLUTAMATE RECEPTORS IN THE HIPPOCAMPUS

Aksenova S.V., Batova A.S., Bugay A.N., Dushanov E.B.

Joint Institute for Nuclear Research

Joliot Curie str., 6, Dubna, 141980, Russia; e-mail: kgyr@mail.ru

Received 15.07.2023. DOI: 10.29039/rusjbpс.2023.0602

**Abstract.** In this work, we propose a model approach for analysis of the properties of hippocampal neural networks containing modified glutamate receptors. Molecular dynamics modeling of NMDA and AMPA receptors containing damage caused by the action of free radicals was carried out. The study of network activity of neurons with altered receptor structure was carried out in models of neural network CA3 of the hippocampus region. As a result of studying the properties of the neural network of the hippocampus with a modified structure of glutamate receptors, the electrophysiological characteristics of the known model of neural networks were obtained depending on the structure of the ion channel of the receptor. Based on the analysis of changes in the conductance of the ion channel, differences in the amplitude of the theta and gamma frequency ranges in neural networks with different model structures of AMPA and NMDA receptors were revealed. During the analysis of the network activity of neurons, changes in the conductance of the ion channel of glutamate receptors and local potential were revealed depending on the type of damage. With a significant decrease in the conductivity of the ion channel of the glutamate receptor in the neural network, a decrease in the amplitude of the theta-frequency and an increase in the gamma-frequency ranges is observed. In the case of damage to the TYR731 and CYS765 NMDA receptor in the neural network, an increase in the amplitude of the theta and gamma frequency ranges takes place.

**Key words:** *hippocampus, NMDA receptor, Alzheimer's disease, molecular dynamics, neural network.*