

Роль ALDH1A1 в цинк-зависимых механизмах дегенерации сетчатки при глаукоме

Научный руководитель – Зерний Евгений Юрьевич

Белолипская Софья Александровна

Студент (бакалавр)

Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова,
Москва, Россия

E-mail: sobelka24@mail.ru

Глаукома признана одной из основных причин необратимой потери зрения в мире. Однако точный механизм развития данной патологии остается не до конца изученным. Одним из новых и перспективных направлений в исследовании повреждения сетчатки является нарушение гомеостаза внутриклеточного цинка, возникающее на фоне окислительного стресса. Предполагается, что избыток лабильного цинка действует как вторичный мессенджер, способствующий инициации апоптоза клеток сетчатки. Наши предварительные данные указывают на значимую роль альдегиддегидрогеназы 1A1 (ALDH1A1) в цинк-зависимой нейродегенерации при глаукоме.

Целью настоящей работы является изучение цинк-зависимых механизмов нейродегенерации сетчатки при глаукоме с последующим поиском потенциальных мишеней для терапевтического воздействия.

Методом Zn^{2+} -аффинной хроматографии с последующей идентификацией белков с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (МАЛДИ-МС) был осуществлен поиск цинк-связывающих белков в экстрактах сетчатки лабораторных животных (кроликов). В результате были идентифицированы 4 белка, для которых цинк-связывающие свойства ранее не были подтверждены. Наиболее релевантным кандидатом оказался сигнальный фермент каскада ретиноевой кислоты ALDH1A1, содержание которого в сетчатке пациентов с глаукомой превышает норму в 11 раз. С помощью изотермической титрующей калориметрии определена аффинность рекомбинантной формы ALDH1A1 к цинку. В качестве экспериментальной модели нейронального повреждения при глаукоме использовали клеточную линию SH-SY5Y, культивируемую в условиях избытка цинка и окислительного стресса. Роль ALDH1A1 исследовалась на клеточной линии SH-SY5Y с помощью оверэкспрессии соответствующего гена, подтверждаемой методом иммуноблоттинга. Жизнеспособность клеток оценивалась колориметрическим тестом с использованием 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолий бромида (МТТ-тест). Динамика и механизмы клеточной гибели охарактеризованы методом проточной цитометрии.

С помощью Zn^{2+} -аффинной хроматографии экстрактов сетчатки животных, анализа методом МАЛДИ-МС и изотермической титрующей калориметрии ALDH1A1 впервые идентифицирована в качестве потенциального цинк-связывающего белка. На основании клеточных тестов и проточной цитометрии доказана способность избытка ALDH1A1 выполнять протекторную функцию в условиях окислительного стресса, а также оказывать действие на жизнеспособность клеток в нормальных условиях. Подтверждено влияние цинка на функциональную активность ALDH1A1.

Полученные данные позволяют предположить, что при глаукомной нейродегенерации избыток внутриклеточного цинка способен связываться с ALDH1A1 и оказывать влияние на его каталитическую активность. Это дает основания рассматривать ALDH1A1 как

потенциальную терапевтическую мишень для блокады цинк-зависимого повреждения сетчатки при глаукоме.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ 24-15-00171.