

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

Влияние мутаций на структуру и функции белковых комплексов синаптических рецепторов

При пилотируемых полетах в дальний космос высокую опасность для экипажей кораблей могут представлять тяжелые заряженные частицы, входящие в состав галактических космических лучей (ГКЛ). При оценке риска радиационного воздействия тяжелых ядер ГКЛ в ходе межпланетной миссии необходимо иметь в виду возможное формирование нарушений со стороны центральной нервной системы космонавтов [1]. В экспериментах на ускорителях по облучению лабораторных животных высокоэнергетическими ионами железа выявляются различные нарушения пространственной ориентации, угнетение когнитивных функций, что связывается с повреждением механизмов синаптической передачи в различных структурах мозга и, прежде всего, в гиппокампе [2]. Нейрофизиологами при изучении нейродегенеративных заболеваний выявлено, что

подобные нарушения имеют генетическую природу и связаны с возникновением мутаций в генах, кодирующих ключевые белки нейронов [3]. Таким образом, можно полагать, что радиационные повреждения в генах нервных клеток, индуцирующих различного типа мутации, могут обуславливать экспрессию мутантных форм белков, участвующих в формировании структуры рецепторов, что может сказаться на их нормальном функционировании [4]. Наиболее значимо это будет проявляться при возникновении кластерных повреждений ДНК, обуславливающих грубые нарушения генома и сопровождающихся возникновением структурных мутаций. С учетом этого представляет интерес рассмотреть влияние как точковых, так и структурных мутаций в генах нейронов гиппокампа на состояние синаптических рецепторов.

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

The Influence of Mutations on the Structure and Functions of Synaptic Receptor Protein Complexes

For crews on deep space missions, the heavy charged particles of the galactic cosmic rays (GCR) would be highly dangerous. When evaluating the risk of interplanetary flight crew members' exposure to GCR heavy nuclei, one has to take into account the possibility of the development of central nervous system (CNS) disorders [1]. In accelerator-based experiments on the irradiation of laboratory animals with high-energy iron ions, a whole set of effects were observed, appearing as pronounced disorders in spatial orientation and cognitive function suppression, which is linked with damage to synaptic transmission mechanisms in different brain structures — first of all, in the hippocampus [2]. In research on neurodegenerative diseases, neurophysiologists have found that such disor-

ders have the genetic nature and are connected with the emergence of mutations in genes encoding neurons' key proteins [3]. It can thus be considered that radiation lesions in nerve cell genes inducing mutations of different types can underlie the expression of mutant forms of the proteins participating in the formation of the receptors' structure, which can impair the normal functioning of the receptors [4]. It would be most pronounced for clustered DNA damage, which causes major genome disorders and is accompanied by structural mutations. For this reason, it would be interesting to study the influence of point and structural mutations in hippocampal neuron genes on synaptic receptor condition.

В качестве объекта исследования рассмотрен ионотропный рецептор глутамата NMDA (N-метил-D-аспартат), который играет ключевую роль в регуляции синаптической пластичности, обучении и формировании различных видов памяти [4,5]. Рецептор представляет собой гетеротетрамер двух субъединиц — NR1 и NR2, кодируемых генами *GRIN1* и *GRIN2*. В ходе работы проведено молекулярно-динамическое моделирование процесса активации полноатомной структуры рецептора NMDA на базе пакета NAMD. Рецептор построен из мутантных форм белков, соответствующих субъединице NR2 (рис. 1). При

этом анализировались одиночные и двойные точковые мутации, а также одна структурная мутация (делеция), приводящие к нейродегенеративным заболеваниям, таким как различные формы эпилепсии, аутизм, умственная отсталость [3]. Анализ полученных структур позволил определить изменения проводимости ионного канала, которые сильно уменьшались в случае двойных точковых мутаций и делеции. Одиночные точковые мутации вызывают незначительные изменения проводимости ионного канала, однако в ряде случаев могут приводить к нарушению связывания ионов магния.

Рис. 1. NMDA-рецептор — тетрамер, состоящий из субъединиц NR1 и NR2. Сверху отмечены мутации в гене *GRIN2*, приводящие к нарушению проводимости ионного канала рецептора. На графиках приведено сравнение геометрии ионного канала для точковой мутации p.Arg540His и делеции p.Phe671_Gln672del (красный цвет) относительно нативного варианта (черный)

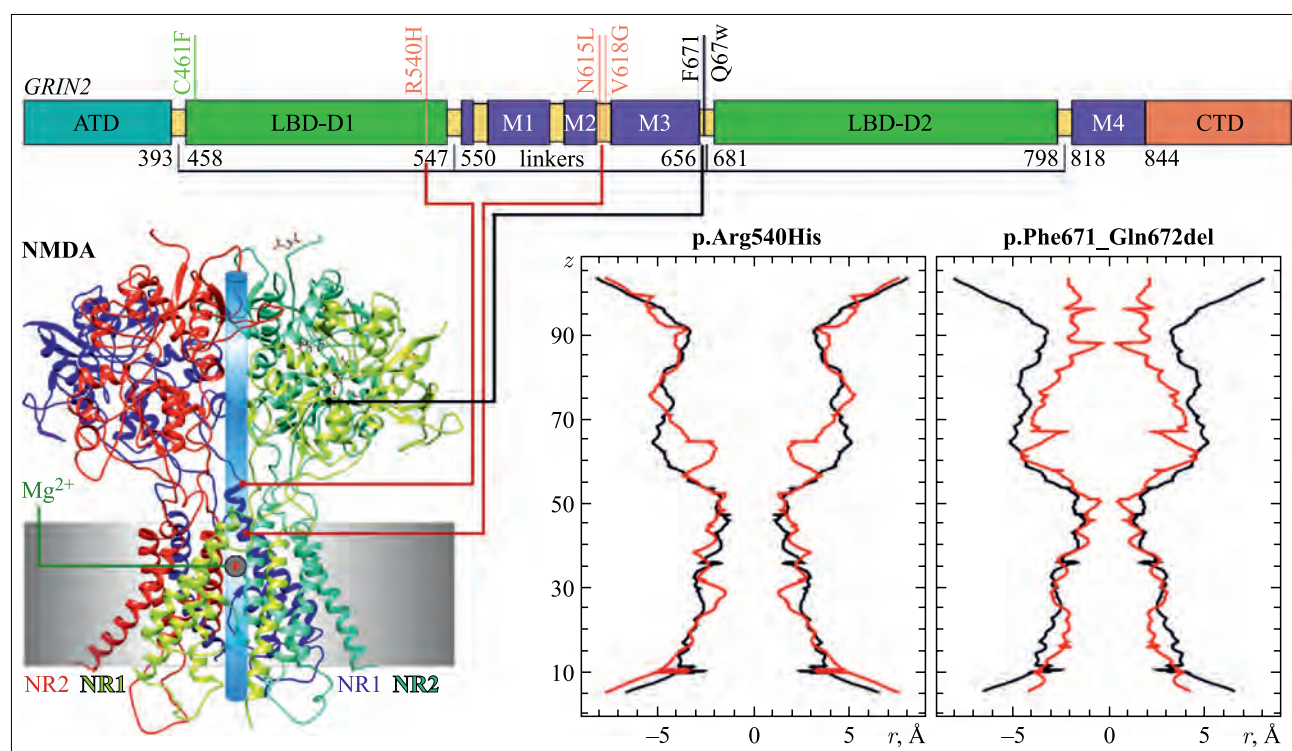


Fig. 1. The NMDA receptor — a tetramer consisting of the NR1 and NR2 subunits. The mutations in the *GRIN2* gene marked in the upper part of the graph violate the permeability of the receptor's ion channel. The curves show a comparison of the ion channel geometry for the p.Arg540His point mutation and the p.Phe671_Gln672del deletion (red) and the native variant (black)

Examined as a research subject was the ionotropic glutamate receptor NMDA (N-methyl-D-aspartate), which plays a key role in synaptic plasticity regulation, learning, and formation of different types of memory [4,5]. The receptor is a heterotetramer of two subunits, NR1 and NR2, which are encoded by the *GRIN1* and *GRIN2* genes. In the present study, molecular dynamics modeling of the process of full-atom NMDA receptor structure activation has been performed with NAMD software. The receptor was constructed from the mutant protein forms correspond-

ing to the NR2 subunit (Fig. 1). Analyzed were single and double point mutations and one structural mutation (deletion), which led to neurodegenerative diseases like different forms of epilepsy, autism, and mental retardation [3]. The analysis of the obtained structures has allowed evaluation of changes in ion channel conductance, which sharply decreases in the case of double point mutations and a deletion. Single point mutations cause insignificant changes in ion channel conductance, but can lead in some cases to magnesium ion bonding disorder.

Полученные данные использовались в модели нейронной сети областей CA1–CA3 гиппокампа в пакете NEURON. В результате удалось исследовать влияние мутаций, кодирующих белковые субъединицы NMDA-рецепторов, на генерацию θ - и γ -ритмов нейронной сетью. По характеру активности нейронной сети и соответствующей электроэнцефалограмме можно судить об эффекте конкретного типа мутантной структуры (рис. 2). Модельный подход был успешно апробирован на известных из эксперимента эффектах от точковых мутаций p.Arg540His и p.Asn615Leu, при-

водящих к эпилептическим расстройствам. В случае делеции p.Phe671_Gln672del было выявлено уменьшение амплитуды θ -ритма в два раза [5].

Таким образом, именно сложные генетические повреждения, преимущественно образующиеся при действии тяжелых заряженных частиц, в наибольшей степени будут затрагивать состояние ионного канала NMDA-рецептора (и других рецепторов), что будет отражаться на проявлении функций ЦНС, контролируемых гиппокампом.

Рис. 2. Изменение спектров (красные кривые) электроэнцефалограммы гиппокампа в θ -диапазоне в случаях точковой мутации p.Arg540His (слева) и делеции p.Phe671_Gln672del (справа) относительно нативного варианта (черные кривые)

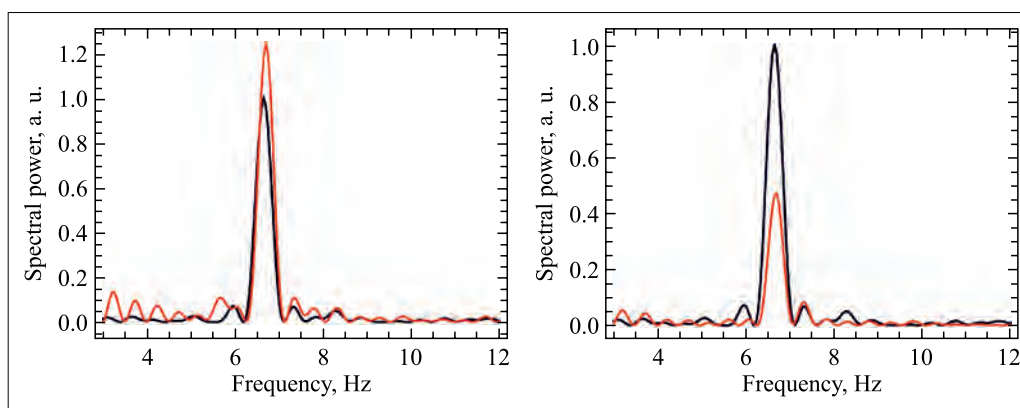


Fig. 2. Changes in hippocampal electroencephalogram spectra (red) in the θ -band in the case of the p.Arg540His point mutation (left) and the p.Phe671_Gln672del deletion (right) relative to the native variant (black)

The obtained data have been used in a model of the neural network of the CA1–CA3 regions of the hippocampus, which was constructed using the NEURON software package. As a result, the influence has been studied of the mutations encoding the protein subunits of the NMDA receptors on the generation of the θ - and γ -rhythms by the neural network. On the grounds of the character of the neural network's activity and the corresponding electroencephalogram, one can make conclusions about the effect of a specific type of the mutant structure (Fig. 2). This model approach has been successfully tested on the experimentally known effects of the point mutations p.Arg540His and p.Asn615Leu, which lead to epilepsy. For deletions, a twofold decrease in the θ -rhythm amplitude has been observed [5].

Complex genetic damage, which prevails in the damage induced by heavy charged particles, will thus have the strongest effect on the condition of the ion channel of the NMDA and other receptors. It will reflect on the manifestations of the CNS functions controlled by the hippocampus.

Список литературы / References

1. Григорьев А.И., Красавин Е.А., Островский М.А. К вопросу о радиационном барьере при пилотируемых межпланетных полетах // Вестн. РАН. 2017. Т.87, №1. С. 65–69.
Grigoryev A. I., Krasavin E. A., Ostrovsky M. A. On the Issue of the Radiation Barrier for Manned Interplanetary Flights // Bull. Russ. Acad. Sci. 2017. V. 87, No. 1. P. 65–69 (in Russian).
2. Shi L. et al. Spatial Learning and Memory Deficits after Whole-Brain Irradiation Are Associated with Changes in NMDA Receptor Subunits in the Hippocampus // Radiat. Res. 2006. V. 166. P. 892–899.
3. Burnashev N., Szepietowski P. NMDA Receptor Subunit Mutations in Neurodevelopmental Disorders // Curr. Opin. Pharmacol. 2015. V. 20. P. 73–82.
4. Boreyko A. V., Bugay A. N., Bulanova T. S., Dushanov E. B., Jezkova L., Kulikova E. A., Smirnova E. V., Zadneprianeț M. G., Krasavin E. A. Clustered DNA Double-Strand Breaks and Neuroradiobiological Effects of Accelerated Charged Particles // Phys. Part. Nucl. Lett. 2018. V. 15, No. 5. P. 551–561.
5. Batova A. S., Bugay A. N., Dushanov E. B. Effect of Mutant NMDA Receptors on the Oscillations in a Model of Hippocampus // J. Bioinformat. Comput. Biol. 2019. V. 17, No. 1. P. 1940003.