

УДК 577.24

АУТОФАГИЯ КАК МИШЕНЬ РЕТИНОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ МИТОХОНДРИАЛЬНОГО АНТИОКСИДАНТА SkQ1

© 2020 Д.В. Телегина¹, О.С. Кожевникова¹, А.Ж. Фурсова¹, Н.Г. Колосова^{1,2*}

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, 630090 Новосибирск,
Россия; электронная почта: kolosova@bionet.nsc.ru

² Новосибирский институт органической химии имени Н.Н. Ворожцова СО РАН,
630090 Новосибирск, Россия

Поступила в редакцию 06.07.2020

После доработки 28.08.2020

Принята к публикации 11.09.2020

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – комплексное нейродегенеративное заболевание, которое становится основной причиной снижения и потери зрения людьми пожилого возраста. В основе патогенеза сухой, наиболее распространенной формы ВМД (~80% случаев), лежат дегенеративные изменения ретинального пигментного эпителия (РПЭ), тесно связанные с нарушением аутофагии с возрастом. Воздействия, направленные на их восстановление, рассматриваются как перспективная мишень для терапии этого неизлечимого заболевания. Цель настоящего исследования – оценка связи ранее выявленных ретинопротекторных эффектов митохондриального антиоксиданта пластохинонил-децил-трифенилфосфония (SkQ1) с его влиянием на процессы аутофагии. Работа выполнена на преждевременно стареющих крысах OXYS (контроль – крысы Вистар), у которых развивается ретинопатия, аналогичная ВМД у людей. Прием SkQ1 в период активной прогрессии заболевания (250 нмоль/кг массы тела с возраста 12 до 18 месяцев) полностью предотвратил прогрессию клинических проявлений ретинопатии у крыс OXYS, подавил атрофические изменения клеток РПЭ и активировал процесс аутофагии в сетчатке, на что указывает существенное снижение уровня мультифункционального адаптерного белка p62/Sqstm1 и повышение уровня мРНК гена *Beclin 1*. Полученные ранее и в настоящем исследовании результаты свидетельствуют о перспективности использования SkQ1 для профилактики и подавления прогрессии ВМД у людей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: SkQ1, возрастная макулярная дегенерация, ретинальный пигментный эпителий, аутофагия, старение, крысы OXYS, p62.

DOI: 10.31857/S0320972520120155

ВВЕДЕНИЕ

Возрастная макулярная дегенерация (ВМД) – комплексное нейродегенеративное заболевание, которое становится основной причиной снижения и потери зрения людьми старше 60 лет. Заболеваемость ВМД растет на фоне старения населения развитых стран и, по прогнозам, со 196 млн человек в 2020 г. достигнет 288 млн к 2040 г. [1]. В то время как достигнут значительный прогресс в лечении влажной (или экссудативной) формы ВМД с использованием ингибирования фактора роста эндотелия сосудов (VEGF), наиболее распространенная сухая, атрофическая форма заболевания (~80% случаев), остается неизлечимой, а её патогенез – до конца

Принятые сокращения: ВМД – возрастная макулярная дегенерация; РПЭ – ретинальный пигментный эпителий; SkQ1 – 10-(6'-пластохинонил)-децил-трифенилфосфоний; ФИТЦ – флуоресцеин-изотиоцианат; TFAM – митохондриальный фактор транскрипции А; VDAC1 – потенциал-зависимый анионный канал.

* Адресат для корреспонденции.

не ясным. Причиной гибели фоторецепторов, которая и приводит к потере центрального зрения при сухой форме ВМД, становится дегенерация ретинального пигментного эпителия (РПЭ), критическую роль в которой играют окислительный стресс и нарушение с возрастом аутофагии – процесса доставки компонентов цитоплазмы (в том числе органелл) для деградации в лизосомы, поддерживающего клеточный гомеостаз и производство энергии. Аутофагия, модулируя клеточный метаболизм и цитоплазматический контроль качества, по определению Kaarniranta et al. [2], находится на перекрестке выживания и гибели клеток. Её дисфункция приводит к нарушению гомеостаза, накоплению поврежденных органелл и нефункциональных и/или токсических белков. Дисфункция аутофагии может приводить к нарушению функций митохондрий и окислительному стрессу [3], которые, в свою очередь, негативно сказываются на процессе аутофагии и повышают риск развития нейродегенеративных заболеваний [4]. Подавление аутофагии приводит к митохондриаль-

ной дисфункции и накоплению поврежденных органелл, белков и усиленной генерации АФК, что в конечном счете влияет на жизнеспособность клеток и может вызывать их гибель [5]. Появились данные, указывающие на прямую связь между состоянием клеточной системы контроля качества, прежде всего — аутофагии/митофагии, и изменениями динамики митохондрий при ассоциированных со старением заболеваниях [6]. Предполагается, что нарушение взаимодействия процессов аутофагии и биогенеза митохондрий вносит вклад и в развитие ВМД, а воздействия, направленные на их восстановление, рассматриваются как потенциальная терапевтическая мишень для профилактики заболевания [7]. Ранее на моделях светового повреждения [8] и в наших работах, выполненных на преждевременно стареющих крысах OXYS [9–13], было показано, что значительным ретинопротекторным потенциалом обладает митохондриальный антиоксидант пластохинонил-децил-трифенилфосфоний (SkQ1). Ретинопатия, аналогичная ВМД у людей, развивается у крыс OXYS уже в молодом возрасте и проявляется характерными для этого заболевания признаками: дистрофическими изменениями и истончением сетчатки, нарушением микроциркуляции в хороиде, изменением нейротрофического обеспечения, накоплением липофусцина и амилоида β , характерными для ВМД структурно-функциональными изменениями РПЭ [14–17]. Первые клинические проявления ретинопатии выявляются при офтальмоскопических осмотрах у ~20% крыс OXYS в возрасте 5–6 недель, а в возрасте 3-х месяцев регистрируются практически у всех животных. Патологические изменения прогрессируют и достигают выраженных стадий, предполагающих потерю или существенное ухудшение остроты зрения, к возрасту 14–18 мес. Развитие ретинопатии в комплексе с другими ассоциированными со старением заболеваниями у крыс OXYS происходит на фоне дисфункции митохондрий [18] и нарушений аутофагии, которые были выявлены в сетчатке [19], коре головного мозга [20] и почках [21]. Мы показали, что прием SkQ1, начатый в молодом возрасте, предупреждает и/или существенно замедляет развитие, а у взрослых крыс OXYS — подавляет прогрессию всех проявлений преждевременного старения, включая нейродегенеративные изменения сетчатки и головного мозга — признаки ВМД и болезни Альцгеймера. При этом нейропротекторные эффекты SkQ1 были связаны с улучшением состояния митохондриального аппарата мозга. Целью настоящего исследования явилась оценка связи ретинопротекторных эффектов SkQ1 с его влиянием на

процессы аутофагии. Работа была выполнена на годовалых крысах OXYS с выраженными клиническими признаками ВМД, которые получали SkQ1 в течение 6 месяцев.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные и эксперименты над ними. Работа выполнена на крысах — самцах линии OXYS и Вистар (контрольная линия) на базе Центра коллективного пользования «Генофонды лабораторных животных» Института цитологии и генетики СО РАН (RFMEFI61914X0005 и RFMEFI61914X0010). С возраста 4-х недель животных содержали группами по 5 особей в клетках размером $57 \times 36 \times 20$ см при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в условиях фиксированного режима освещения (12 ч свет /12 ч темнота) при свободном доступе к воде и пище — стандартному гранулированному корму для лабораторных животных (ЗАО «Ассортимент-Агро», Россия).

Для оценки эффектов приема SkQ1 подопытные группы крыс OXYS и Вистар после офтальмологического осмотра, начиная с возраста 12 месяцев, в течение шести месяцев 6 раз в неделю получали стандартный рацион + сухарик с добавлением SkQ1 (250 нмоль/кг массы тела); крысы контрольных групп получали стандартный рацион + сухарик. В каждой группе было по 23–25 животных. В возрасте 18 месяцев животные были ингаляционно анестезированы углекислотой и декапитированы в вечернее время. Хориоретинальный комплекс был забран для молекулярно-генетических исследований в жидкий азот и хранился при -70°C .

Офтальмологический осмотр. Офтальмологические осмотры проводили с помощью прямого офтальмоскопа «Vetta» (Германия) после расширения зрачков 1%-ным раствором тропокамида. Наличие и степень выраженности изменений сетчатки оценивали согласно общепринятой в клинической практике классификации в соответствии с протоколом Age-Related Eye Disease Study (AREDS) (<http://eyephoto.opth.wisc.edu>): 0 баллов — изменения отсутствуют; 1 балл — 1-я неэкссудативная стадия заболевания, при которой появляются точечные кровоизлияния, отеки, друзы в заднем полюсе глаза, дефекты в пигментном эпителии, перераспределение пигмента, атрофия хориокапиллярного слоя и пигментного эпителия; 2 балла — 2-я экссудативная стадия с экссудативной отслойкой ретинального пигментного эпителия, нейроэпителия; 3 балла — 3-я стадия — экссудативно-геморрагическая отслойка пигментного и/или нейроэпителия сетчатки, неоваскуляризация, рубцевание.

ПЦР в реальном времени. Выделение тотальной РНК из сетчатки крыс с помощью TRI® Reagent («Ambion», США) проводили по методу производителя. Концентрации мРНК измеряли на приборе NanoDrop2000.

Синтез одноцепочечной кДНК на РНК-матрице проводили с помощью обратной транскриптазы M-MLV согласно протоколу производителя («Promega», США). ПЦР в реальном времени проводили с помощью набора реагентов BioMaster Hot Start-qPCR SYBR Blue (2x) («БиолабМикс», Новосибирск, Россия) на амплификаторе CFX96 («Bio-Rad», США) по три технических повтора на образец. Нуклеотидные последовательности праймеров («Биосан», Россия) приведены в таблице.

Специфичность реакции устанавливали на основе анализа кривых плавления и электрофореза ПЦР продуктов в агарозном геле. Уровень экспрессии оценивали относительно экспрессии двух референсных генов методом Pfaffl [22].

Эффективность праймеров определяли с помощью калибровочных кривых, полученных на основе серийных разведений «усредненного» раствора из всех полученных образцов кДНК. Для нормализации использовали среднее геометрическое значений $E^{C_{q,ref}}$ (контроль-препарат) для генов *Rpl30* и *Gabarap11*, определенных как наиболее стабильные по экспрессии согласно алгоритму Normfinder [23].

Вестерн-блот-анализ. Белок выделяли лизирующим буфером RIPA: 50 mM Tris-HCl, pH 7,4, 150 mM NaCl, 1%-ный Triton X100, 1%-ный дезоксихолат натрия, 0,1%-ный додецилсульфат натрия (SDS), 1 mM EDTA, ингибиторы протеаз и фосфатаз («Sigma-Aldrich»). После тщательного гомогенизирования раствор белка центрифугировали на 12 000 g при 4 °C в течение 10 мин. Супернатант собирали, разделяли на аликваты для дальнейшего использования, замораживали и хранили при -20° C. Концентрацию тотального белка определяли с помощью метода Бредфорда.

Образцы белка смешивали с 5 x буфером для загрузки (10%-ный SDS, 15%-ный меркаптоэтанол, 50%-ный глицерин, 0,3 M Tris-HCl, pH 6,8, бром-феноловый синий), инкубировали 10 мин при комнатной температуре и затем прогревали 10 мин при 95 °C. Белки разделяли электрофорезом в 12%-ном полиакриламидном геле в трис-глициновом буфере (25 mM Tris, 190 mM глицин, 0,1%-ный SDS) по 30 мкг на дорожку. Перенос белков из геля на нитроцеллюлозную мембрану (Hybond-CEXtra, «Amersham») проводили в камере для «влажного» переноса. Качество переноса белков контролировали окрашиванием мембраны в растворе Понсо S в 1%-ной уксус-

ной кислоте. Далее мембрану блокировали в 5%-ном БСА в растворе PBST (0,01 M фосфатно-солевой буфер с 0,1%-ным Tween20) и инкубировали 18 ч с первичными антителами (ab14734, ab133528, ab6276, ab56416 и ab131607) в 5%-ном БСА в растворе PBST (1 : 1000, «Abcam») при 4 °C. После отмывок первичных антител проводили инкубацию с соответствующими вторичными антителами в растворе PBST (1 : 5000, «Abcam») в течение 1 ч при комнатной температуре. Интенсивность свечения оценивали с помощью программы ImageJ (НИН, Bethesda, MD).

Лазерная сканирующая микроскопия. Глаза фиксировали в 4%-ном параформальдегиде, затем отделяли переднюю камеру глаза, хрусталик и нейроретину от задней камеры глаза. Оставшийся слой РПЭ с подлежащей сосудистой оболочкой инкубировали в растворе фаллоидина, меченного флуоресцеин-изотиоцианатом (ФИТЦ) (1 : 500, P5282, «Sigma-Aldrich», США) в PBS при 4 °C в течение 18 ч. После инкубации препараты помещали на стекла, покрытые полилизинем, наносили монтирующую среду с красителем DAPI (ab104139, «Abcam», Cambridge, UK) и накрывали покровным стеклом. Анализ проводили на лазерном сканирующем микроскопе LSM 510 META (Zeiss).

Статистический анализ. Статистические расчеты производили с помощью программного пакета Statistica 10.0 («Statsoft», США). Соответствие распределений условию нормальности проверяли в тесте Шапиро–Уилка. Оценку однородности дисперсий проводили в тесте Левена. Для нормально распределенных выборок с однородными дисперсиями использовали факторный дисперсионный анализ ANOVA с пост-хок сравнением групповых средних (критерий Ньюмена–Кейлса). Как независимые факторы рассматривали генотип и препарат. Статистические различия для выборок с неоднородными дисперсиями (уровень белков *Atg7* и *Tfam*, уровень мРНК *Atg7*, *p62* и *Nbr1*) анализировали с помощью непараметрического критерия Краскела–Уоллиса с внутригрупповым сравнением в тесте Манна–Уитни. Результаты ANOVA-анализа представлены как среднее \pm ошибка среднего (Mean \pm SEM). Результаты непараметрического анализа (Краскел–Уоллис/Манна–Уитни) представлены в виде медианы, интерквартильных размахов (25–75%), минимума и максимума. Различия считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Офтальмологический осмотр проводили дважды: в возрасте 12 мес. до начала приема ан-

Нуклеотидный состав используемых праймеров

Ген	Forward/ reverse	Нуклеотидная последовательность	Температура отжига, °C	Размер продукта, п.н.
<i>Atg7</i>	F	AGCCTGTTTCATCCAAAGTTCT	60	182
	R	CTGTGGTTGCTCAGACGGT		
<i>Becn1</i>	F	GCGTCGGGGCCTAAAGAATG	61,5	191
	R	CTCCTGGCTCTCTCCTGGTT		
<i>Gabarapl1</i>	F	CCTCCGACCTCACTGTTGG	61	204
	R	TGCCTCATTTCCCGTAGACAC		
<i>Map1lc3b</i>	F	GGAGCTTCGAACAAAGAGTGG	61	184
	R	TGCAGGCGCCTTCTAATTATCT		
<i>Nbr1</i>	F	TAGTCCCAGAAGTGGCAGGA	60	200
	R	ATTGTGGTGCCTTGAGTGGT		
<i>p62/Sqstm1</i>	F	CTGAGTCGGCTTCTGCTCCAT	61,5	182
	R	ATCTTCTGTGCCTGTGCTGGA		
<i>Rpl30</i>	F	ATGGTGGCTGCAAAGAAGAC	60-61,5	143
	R	CAAAGCTGGACAGTTGTTGG		

тиоксиданта и по окончании курса в возрасте 18 мес. При предварительном осмотре группы контрольных и подопытных крыс OXYS по выраженности клинических проявлений ретинопатии не различались (рис. 1, а). При повторном осмотре выраженность патологических изменений у получавших антиоксидант крыс OXYS была меньше, чем у животных из конт-

рольной группы ($F_{1,92} = 32,4, p < 0,000000$). Так, у животных контрольной группы в 33% глаз изменения соответствовали 3, тяжелой стадии ВМД, в 67% – второй. У крыс OXYS, получавших SkQ1, только в 2% глаз изменения соответствовали 3 стадии, в 73% – второй и в 12% – первой стадии заболевания (рис. 1, б). Согласно зависимым парным сравнениям, ретинопатия у

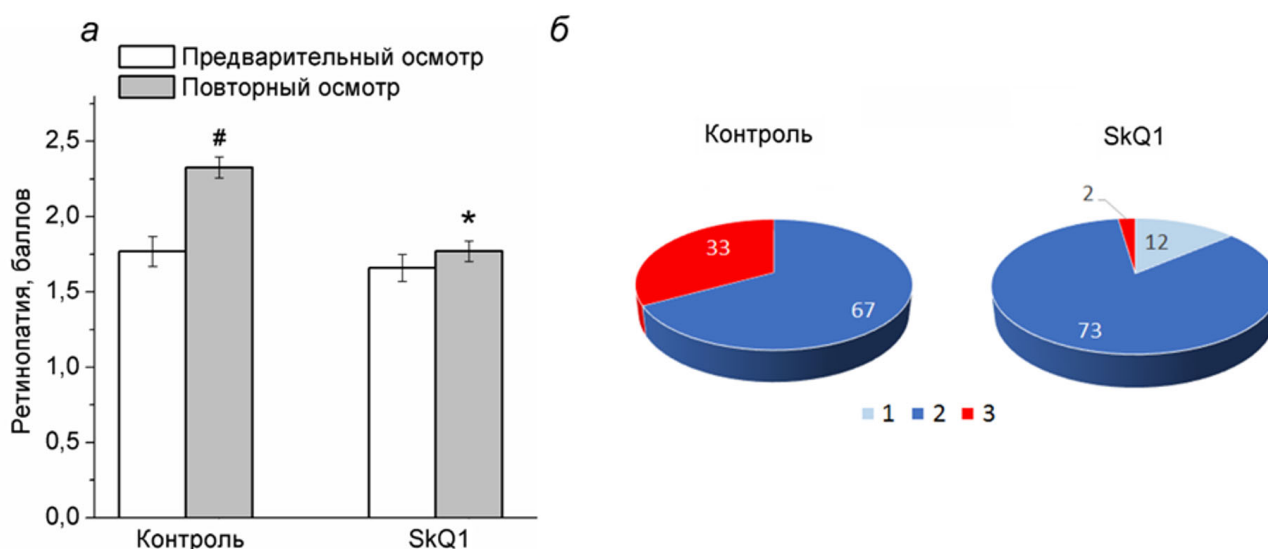


Рис. 1. Прием SkQ1 с возраста 12 до 18 мес. (250 мг/кг массы тела в день) предупредил прогрессию ретинопатии у крыс OXYS. *а* – Выраженность патологических изменений сетчатки крыс OXYS в баллах, соответствующих стадии заболевания, при предварительном осмотре и после лечения. Данные представлены как среднее ± ошибка среднего. Различия достоверны: # – по сравнению с предварительным осмотром, $p < 0,5$; достоверный эффект препарата – $*p < 0,05$; *б* – процент глаз контрольных ($n = 46$) и получавших SkQ1 ($n = 48$) крыс OXYS, соответствующих стадиям (0, 1, 2 и 3) ретинопатии

контрольных крыс OXYS прогрессировала ($p < 0,0005$), в то время как SkQ1 предупредил дальнейшее развитие заболевания – значимых изменений состояния сетчатки не выявлено ($p = 0,280$). У крыс Вистар патологических изменений сетчатки не было выявлено ни при предварительном, ни при повторном осмотре контрольных и получавших SkQ1 животных.

Влияние длительного приема SkQ1 на морфологию клеток ретинального пигментного эпителия. Ранее было показано, что прогрессия ВМД-подобной ретинопатии у крыс OXYS происходит на фоне характерных патоморфологических изменений клеток РПЭ, плотность которых при

этом не отличается от таковой у крыс Вистар [15]. Для оценки влияния приема SkQ1 на морфологию клеток РПЭ проводили его окрашивание ФИТЦ-меченым фаллоидином, связывающим F-актин цитоскелета. Исследование показало, что у 18-мес. крыс Вистар подавляющее большинство клеток РПЭ имеет характерную гексагональную форму и содержит не более двух ядер, которые локализованы в центре клетки. Наблюдались также отдельные клетки РПЭ с потерей формы и увеличением количества ядер (рис. 2, а). В отличие от крыс Вистар, у контрольных крыс OXYS в возрасте 18 мес. выявлены множественные нарушения морфологии клеток

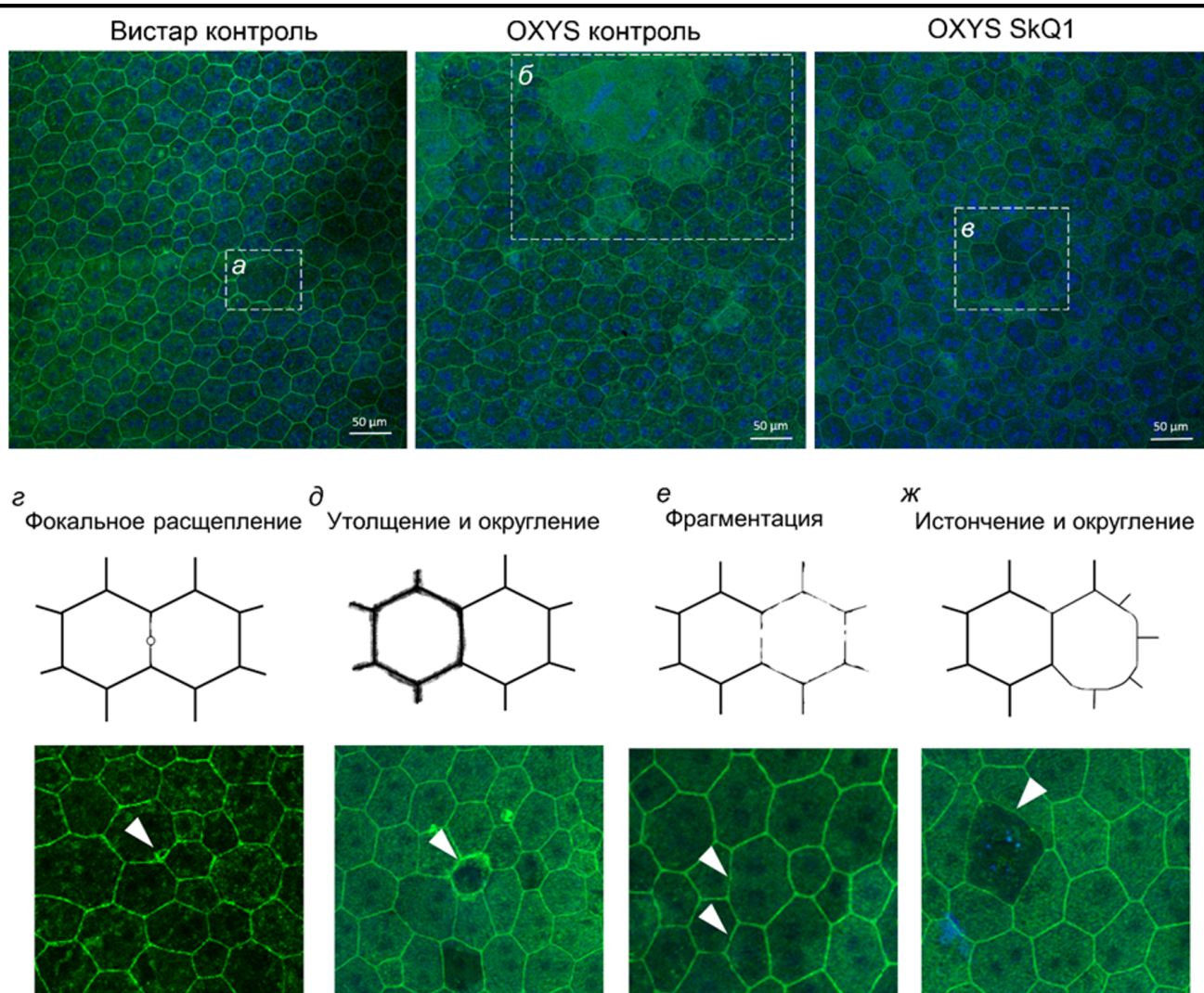


Рис. 2. Влияние длительного приема SkQ1 на морфологию клеток ретинального пигментного эпителия крыс OXYS. Показаны клетки РПЭ с потерей гексагональной формы (а) и смещением ядер к периферии (б), места скопления гиперпролиферированных клеток РПЭ с полиплоидией и накоплением аутофлуоресцирующего содержимого у крыс OXYS (б). Показаны примеры нарушения цитоскелета (указаны стрелками): фокальным расщеплением (а), утолщением (б) и истончением границ клеток (ж), округление клетки (д, ж) и фрагментацией (е) цитоскелета. Границы клеток РПЭ окрашены ФИТЦ-фаллоидином, ядра окрашены DAPI

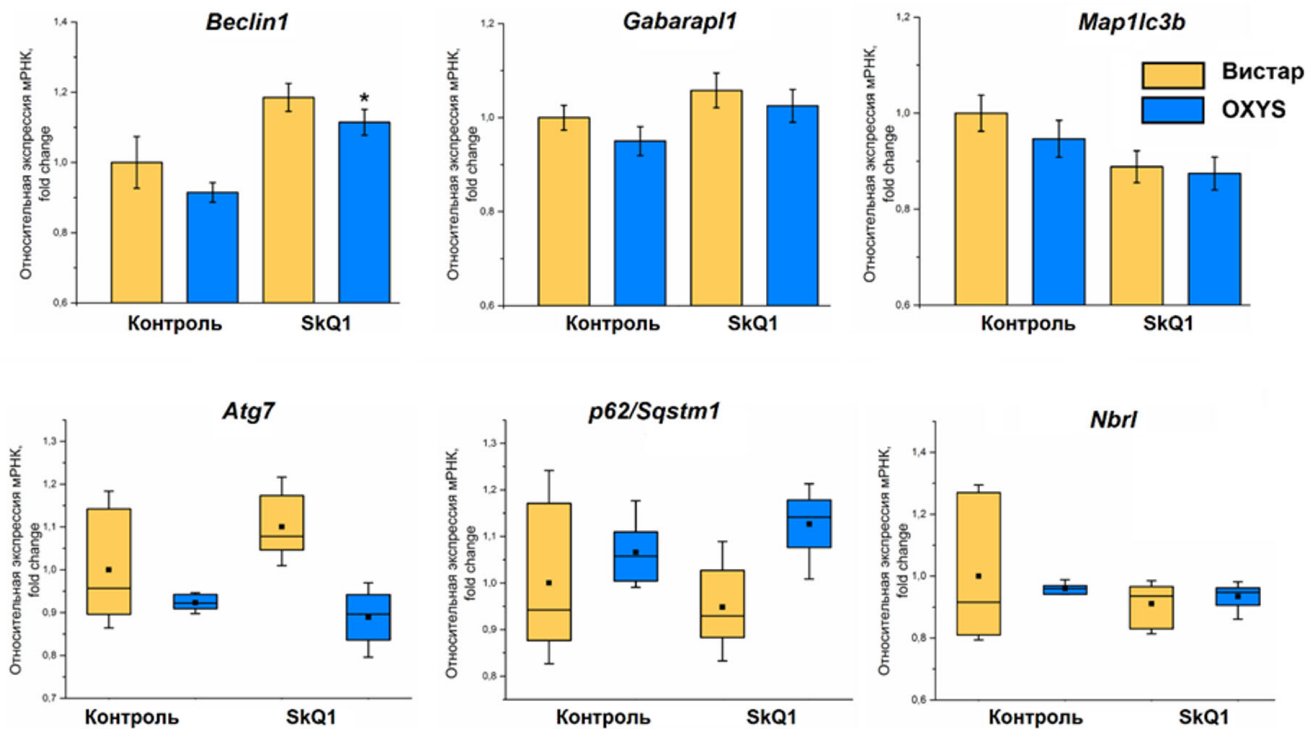


Рис. 3. Влияние приема SkQ1 на уровень мРНК вовлеченных в аутофагию генов в сетчатке крыс Вистар и OXYS. Данные представлены как \pm SEM ($n = 6$) для мРНК генов *Beclin1*, *Gabarapl1* и *Map1lc3b* и представлены в виде медианы, интерквартильных размахов (25–75%), минимумом и максимумом для *Atg7*, *p62* и *Nbr1*. (*) Достоверный эффект препарата, $p < 0,05$ (ANOVA, пост-хок Ньюмена–Кельса)

РПЭ: потеря гексагональной формы в результате изменения структуры цитоскелета, фокальные расщепления цитоскелета двух соседних клеток и фрагментация F-актина, скопления гипертрофированных клеток РПЭ с полиплоидией, смещение ядер к периферии клеток и накопление в цитоплазме аутофлуоресцирующего содержимого (рис. 2, б, г–ж). Все эти изменения указывают на атрофию клеток РПЭ у 18-мес. крыс OXYS. Длительный прием SkQ1 подавил атрофические изменения клеток РПЭ у крыс OXYS (рис. 2, в), т.е. уменьшил количество и площадь очагов гипертрофированных клеток РПЭ и уровень аутофлуоресценции, что хорошо согласуется с результатами офтальмологических осмотров. Тем не менее у крыс OXYS, принимавших SkQ1, сохранялось повышенное по сравнению с крысами Вистар содержание клеток РПЭ с полиплоидией и нарушением гексагональной формы (рис. 2, в).

Влияние SkQ1 на уровень мРНК генов, вовлеченных в аутофагию. Было исследовано влияние SkQ1 на уровень мРНК генов, продукты которых участвуют в аутофагии на разных её стадиях: *Beclin1* (инициация), *Atg5* и *Atg7* (образование фагофора), *Map1lc3b* и *Gabarapl1* (удлинение и созревание аутофагосом) и *Sqstm1* (кодирующе-

го белок p62) и *Nbr1* (селективная аутофагия). Как показал ANOVA-анализ, уровень мРНК гена *Beclin1* в сетчатке не зависел от генотипа животных ($F_{1,22} = 0,5$, $p = 0,49$) и на него влиял антиоксидант SkQ1 ($F_{1,22} = 17,01$, $p < 0,00045$) (рис. 3). Однако сравнение групповых средних (пост-хок Ньюмена–Кельса) показало, что достоверным это повышение было только у крыс OXYS ($p < 0,02$) (рис. 3). Достоверных различий в уровне экспрессии других исследованных генов выявлено не было.

Влияние SkQ1 на уровень белков Atg7, p62, VDAC1 и TFAM в сетчатке крыс Вистар и OXYS. Исследовали влияние приема SkQ1 на уровень в сетчатке белков, ассоциированных с аутофагией (p62/Sqstm1, Atg7) и митохондриями (VDAC1, TFAM). Обнаружено, что прием SkQ1 не влиял на уровень белка Atg7, при этом существенно снизил уровень белка p62/Sqstm1 в сетчатке как крыс OXYS, так и крыс Вистар ($F_{1,20} = 4,701$, $p < 0,02$) (рис. 4). Уровень митохондриального белка VDAC1 в сетчатке крыс OXYS был на 30% ниже, чем у крыс Вистар ($F_{1,20} = 7,32$, $p < 0,001$). Прием SkQ1 понизил уровень VDAC1 у крыс Вистар и не изменил его у крыс OXYS, в результате чего межлинейные различия нивелировались. При этом уровень

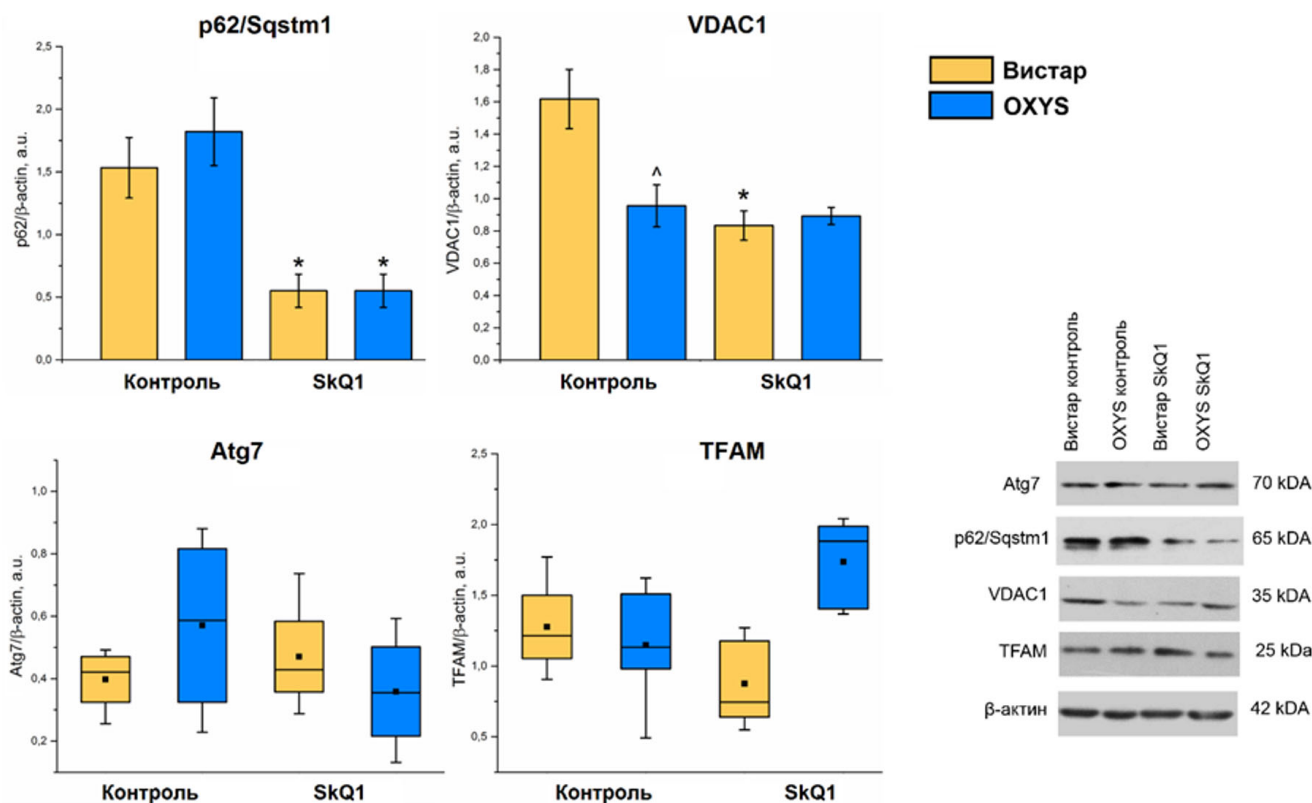


Рис. 4. Влияние приема SkQ1 на уровень ассоциированных с аутофагией белков в сетчатке крыс Вистар и OXYS. Данные представлены как $\text{mean} \pm \text{SEM}$ ($n = 5$) для белков p62 и VDAC1 и в виде медианы, интерквартильных размахов (25–75%), минимумом и максимумом для Atg7 и TFAM. Межлинейные различия, (\wedge) $p < 0,05$; эффект препарата, (*) $p < 0,05$ (ANOVA, пост-хок Ньюмена–Кельса)

транскрипционного фактора TFAM, ключевого регулятора транскрипции и репликации мтДНК, не различался между линиями, и на него не влиял прием SkQ1.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Ранее было показано, что как диетические добавки с SkQ1, так и глазные капли с SkQ1 способны предупреждать развитие и подавлять прогрессию ретинопатии у крыс OXYS [9–13]. Также мы показали, что у крыс OXYS развитие ретинопатии, аналогичной ВМД, происходит на фоне изменения в сетчатке уровня белков, участвующих в аутофагии [16], и снижения реактивности аутофагии – способности усиливать активность аутофагии в ответ на стресс [19]. В данном исследовании была оценена связь терапевтического эффекта митохондриального антиоксиданта SkQ1 (его способность подавлять развитие у крыс OXYS развитие ретинопатии) с его влиянием на процесс аутофагии в сетчатке.

Прием SkQ1 в период активной прогрессии признаков ВМД (с возраста 12 до 18 мес.) полностью предотвратил развитие клинических проявлений ретинопатии у крыс OXYS, а также уменьшил проявления атрофии РПЭ. РПЭ – монослой постмитотических поляризованных эпителиальных клеток, расположенный между фоторецепторами и хориокапиллярами, который формирует гематоретинальный барьер, обеспечивает доставку питательных веществ и удаление отходов, ионный гомеостаз, синтез и высвобождение факторов роста, фагоцитоз наружных сегментов фоторецепторов [24]. Многочисленными исследованиями показано, что нарушение функций клеток РПЭ способствует дегенерации нейронов сетчатки и накоплению гранул липофусцина в друзах и, возможно, является основной причиной развития ВМД [25]. Исследования на животных – моделях ВМД – и клинические наблюдения показывают, что нарушение и/или дисфункция аутофагии может приводить к накоплению поврежденных белков и органелл, липофусциновых гранул и, как следствие, снижать митохондриальную активность и

способствовать дисфункции клеток РПЭ [1]. Как и в предыдущих исследованиях, у крыс OXYS при прогрессии признаков ретинопатии наблюдали атрофические изменения клеток РПЭ — гипертрофию, полиплоидию, потерю гексагональной формы и накопление аутофлуоресцирующего содержимого [15, 16]. Обнаружено, что длительный прием SkQ1 тормозит развитие нарушений морфологии клеток РПЭ и снижает накопление аутофлуоресцирующих гранул у крыс OXYS, что может указывать на усиление аутофагии в клетках РПЭ.

Прием SkQ1 снизил в сетчатке крыс обеих линий уровень белка p62/Sqstm1, но не изменил уровень мРНК кодирующего его гена. Мультифункциональный адаптерный белок p62 является связующим звеном между селективной аутофагией, которая обеспечивает направленное устранение поврежденных органелл и белковых агрегатов, и сигнальным путем Keap1/Nrf2/ARE, ответственным за защиту клеток от окислительного стресса и поддержание окислительно-восстановительного баланса. Ранее был показан терапевтический эффект плазмиды, кодирующей p62/Sqstm1, на развитие ретинопатии у крыс OXYS [26]. Белок p62/Sqstm1 селективно включается в аутофагосомы через прямое связывание с LC3-II и эффективно разрушается в аутолизосоме. Соответственно, общий уровень белка p62/Sqstm1 отрицательно коррелирует с активностью аутофагии [27]. Одним из начальных этапов аутофагии является образование комплекса фосфатидилинозитол-3-киназы класса III, ключевым белком которого является Beclin-1. Прием SkQ1 повысил у крыс OXYS уровень мРНК этого гена. От уровня Beclin-1 зависят стадия инициации аутофагии и формирование фагофора — двухмембранной структуры, которая поглощает цитоплазматический материал с образованием аутофагосомы [28]. Таким образом, снижение уровня p62/Sqstm1 у крыс OXYS и Вистар и повышение экспрессии гена *Beclin1* у крыс OXYS свидетельствуют об усилении аутофагии при длительном приеме SkQ1. Полученные результаты согласуются с ранее выявленными снижением уровня амилоида- β и подавлением активности mTOR в сетчатке крыс OXYS при профилактическом приеме SkQ1 с возраста 1,5 до 22 месяцев [12].

Исследованные в сетчатке изменения уровня мРНК, ассоциированных с аутофагией генов в ответ на ее активацию голоданием и подавление хлорохином, показали, что на транскрипционном уровне ответ на модуляцию аутофагии у крыс OXYS выражен слабее, чем у Вистар [19]. Межлинейные различия в изменении уровня мРНК генов *Atg5*, *Atg7*, *Beclin1*,

Nbr1, *p62* и *Gabarapl1* в ответ на активацию аутофагии голоданием в сетчатке в возрасте 16 мес. были более существенными, чем в возрасте 4 мес. на ранней стадии ретинопатии. В ответ на подавление аутофагии хлорохином изменения уровней мРНК этих генов у крыс OXYS и Вистар также различались. Нарушения реактивности системы аутофагии в период прогрессии признаков ВМД в сетчатке крыс OXYS подтверждает и пониженное количество аутофагосом в сетчатке в условиях блокирования аутофагосомно-лизосомального слияния, свидетельствующее о сниженной скорости их формирования [19]. Следует отметить, что базальные уровни мРНК генов *Atg5*, *Atg7*, *Beclin1*, *Lc3*, *Gabarapl1* и *Nbr1* в эксперименте по модуляции аутофагии у крыс OXYS и Вистар не различались [19], что согласуется с результатами данного исследования. В то же время базальный уровень мРНК гена *p62* был достоверно выше у интактных крыс OXYS по сравнению с интактными крысами Вистар [19]. Отсутствие межлинейных различий в этом показателе, возможно, обусловлено неодинаковой выраженностью патологических изменений сетчатки, которые в ранее проведенном исследовании на клиническом уровне не оценивали.

Снижение активности аутофагии в стареющем организме рассматривается как одна из причин неэффективного удаления поврежденных белков и органелл в клетках [29]. Ранее мы выявили повышенные уровни белков LC3A/B, *Atg7* и *Atg12–Atg5* в сетчатке OXYS при манифестации ретинопатии в возрасте 3 мес. Напротив, в возрасте 18 мес. у крыс OXYS с прогрессирующей стадией ретинопатии уровни белков *Atg7* и *Atg12–Atg5* были существенно ниже, чем у крыс Вистар [16]. Можно полагать, что такое увеличение является адаптивным и компенсирует накопление с возрастом агрегированных белков у крыс Вистар. Таким образом, результаты предыдущих исследований [16, 19] свидетельствуют о раннем истощении процессов аутофагии в сетчатке крыс OXYS, что согласуется с их фенотипом преждевременного старения. В то же время в настоящем исследовании не было обнаружено значимых различий в содержании белка *Atg7* в сетчатке 18-мес. крыс OXYS и Вистар. Причины такого расхождения результатов не совсем понятны. Различия в содержании белка *Atg7*, как и мРНК гена *p62*, могли быть обусловлены как неодинаковой выраженностью патологических изменений сетчатки у крыс OXYS, так и суточными колебаниями регуляции аутофагии [30], поскольку в настоящем исследовании забор образцов проводили в вечернее время.

p62/Sqstm1 является неотъемлемым компонентом системы поддержания биогенеза и функций митохондрий, хотя точный механизм его действия *in vivo* пока не ясен. Так, показано, что p62/Sqstm1 в физиологических условиях (при отсутствии стресса) локализуется в митохондриях, влияет на мембранный потенциал и является частью митохондриальной динамики, регулирует митохондриальный транскрипционный фактор TFAM и таким образом поддерживает стабильность митохондриального генома [31]. TFAM (митохондриальный фактор транскрипции А) синтезируется в цитоплазме и импортируется в митохондрии, где регулирует транскрипцию и репликацию митохондриальной ДНК (мтДНК) [32]. Прием SkQ1 не повлиял на содержание белка TFAM в сетчатке крыс обеих линий. Поскольку изменение уровня TFAM прямо связано с количеством мтДНК [33], то можно предположить, что длительный прием SkQ1 не повлиял на количество мтДНК. В пользу этого свидетельствуют полученные нами ранее данные, согласно которым длительный прием SkQ1 снизил уровень протяженной делеции мтДНК 4834 п.н., но не повлиял при этом на общее количество мтДНК в гиппокампе крыс OXYS [34].

Несмотря на активные исследования роли p62/Sqstm1 в аутофагии, его вклад в селективное удаление митохондрий остается спорным. Так, одни авторы сообщают, что p62/Sqstm1 накапливается в деполяризованных митохондриях и способствует направлению поврежденных митохондрий в аутофагосомы через связывание с LC3 [35]. Другие авторы утверждают, что p62/Sqstm1 необходим только для перинуклеарной кластеризации деполяризованных митохондрий и не участвует в Parkin-зависимой аутофагии [36, 37]. Однако для любого из вариантов необходим митохондриальный порин VDAC1 (потенциал-зависимый анионный канал). VDAC1, с одной стороны, является ключевым белком митохондриального канала, изменяющего проницаемость мембраны митохондрий, а с другой – служит митохондриальным стыковочным узлом для импорта Parkin (остаток E3 убиквитин лигазы) из цитозоля в дефектные митохондрии и их последующего убиквитинирования [38]. Мы обнаружили, что у крыс OXYS уровень белка VDAC1 на 30% ниже, чем у крыс Вистар. Такой результат согласуется с характерным для крыс OXYS снижением удельного количества и площади митохондрий, которое было выявлено в мозге [18] и миокарде [39]. Неожиданно для нас, длительный прием SkQ1 снизил уровень VDAC1 в сетчатке крыс Вистар и не повлиял на уровень этого белка у крыс OXYS. Сниже-

ние уровня белка VDAC1 в сетчатке может указывать на усиление функций митохондрий у крыс Вистар, поскольку показано, что у гетерозиготных по нокауту VDAC1+/- мышей генерация АФК и уровень перекисного окисления липидов снижены, а активность цитохромоксидазы (комплекс IV) и уровень АТФ – повышены [40, 41]. Также этот феномен может быть связан с усилением митофагии и активным удалением поврежденных митохондрий у крыс Вистар на фоне приема SkQ1.

Таким образом, было подтверждено, что SkQ1 способен не только замедлять развитие признаков ВМД в период их манифестации у крыс OXYS, но и подавлять прогрессию заболевания у животных с уже выраженными клиническими проявлениями заболевания. Ранее было показано, что преждевременное старение крыс OXYS тесно связано с нарастающей с возрастом дисфункцией митохондрий, но не с увеличением генерации ими АФК [18]. Соответственно, нейропротекторные эффекты SkQ1 обусловлены позитивным влиянием на структурно-функциональные параметры митохондрий и не определяются только его антиоксидантной активностью, а реализуются за счет нормализации активности многих сигнальных путей и процессов, включая mTOR-, MAPK-, Ca²⁺- и Wnt-сигнальные пути [12, 42–44]. Как показали результаты настоящего исследования, терапевтический эффект SkQ1 связан с подавлением атрофических изменений РПЭ и активацией процессов аутофагии в сетчатке, на что указывает существенное снижение уровня мультифункционального адаптерного белка p62/Sqstm1. Полученные ранее и в настоящем исследовании результаты свидетельствуют о перспективности использования митохондриального антиоксиданта SkQ1 для профилактики и подавления прогрессии ВМД у людей.

Финансирование. Исследования выполнены при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (грант 14.W03.31.0034).

Благодарности. Лазерная сканирующая микроскопия проведена на базе ЦКП микроскопического анализа ИЦиГ СО РАН.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Соблюдение этических норм. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам учреждения, в котором проводили исследования, и утвержденным правовым актам РФ и международных организаций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Wang, S., Wang, X., Cheng, Y., Ouyang, W., Sang, X., et al. (2019) Autophagy dysfunction, cellular senescence, and abnormal immune-inflammatory responses in AMD: from mechanisms to therapeutic potential, *Oxid. Med. Cell Longev.*, **2019**, 3632169, doi: 10.1155/2019/3632169.
- Kaarniranta, K., Tokarz, P., Koskela, A., Paterno, J., and Blasiak, J. (2017) Autophagy regulates death of retinal pigment epithelium cells in age-related macular degeneration, *Cell Biol. Toxicol.*, **33**, 113-128, doi: 10.1007/s10565-016-9371-8.
- Blasiak, J., Pawlowska, E., Szczepanska, J., and Kaarniranta, K. (2019) Interplay between autophagy and the ubiquitin-proteasome system and its role in the pathogenesis of age-related macular degeneration, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 210, doi: 10.3390/ijms20010210.
- Yun, H. R., Jo, Y. H., Kim, J., Shin, Y., Kim, S. S., and Choi, T. G. (2020) Roles of autophagy in oxidative stress, *Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 3289, doi: 10.3390/ijms21093289.
- García-Prat, L., Martínez-Vicente, M., Perdiguerro, E., Ortet, L., Rodríguez-Ubrea, J., et al. (2016) Autophagy maintains stemness by preventing senescence, *Nature*, **529**, 37-42, doi: 10.1038/nature16187.
- Wohlgemuth, S. E., Calvani, R., and Marzetti, E. (2014) The interplay between autophagy and mitochondrial dysfunction in oxidative stress-induced cardiac aging and pathology, *J. Mol. Cell Cardiol.*, **71**, 62-70, doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.03.007.
- Hyttinen, J., Viiri, J., Kaarniranta, K., and Blasiak, J. (2018) Mitochondrial quality control in AMD: does mitophagy play a pivotal role? *Cell. Mol. Life Sci.*, **75**, 2991-3008, doi: 10.1007/s00018-018-2843-7.
- Novikova, Y. P., Gancharova, O. S., Eichler, O. V., Philippov, P. P., and Grigoryan, E. N. (2014) Preventive and therapeutic effects of SkQ1-containing Visomitin eye drops against light-induced retinal degeneration, *Biochemistry (Moscow)*, **79**, 1101-1110, doi: 10.1134/S0006297914100113.
- Saprunova, V. B., Lelekova, M. A., Kolosova, N. G., and Bakeeva, L. E. (2012) SkQ1 slows development of age-dependent destructive processes in retina and vascular layer of eyes of Wistar and OXYS rats, *Biochemistry (Moscow)*, **77**, 648-658, doi: 10.1134/S0006297912060120.
- Neroev, V. V., Archipova, M. M., Bakeeva, L. E., Fursova, A., Grigorian, E. N., et al. (2008) Mitochondria-targeted plastoquinone derivatives as tools to interrupt execution of the aging program. 4. Age-related eye disease. SkQ1 returns vision to blind animals, *Biochemistry (Moscow)*, **73**, 1317-1328, doi: 10.1134/s0006297908120043.
- Muraleva, N. A., Kozhevnikova, O. S., Zhdankina, A. A., Stefanova, N. A., Karamysheva, T. V., Fursova, A. Z., and Kolosova, N. G. (2014) The mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 restores α B-crystallin expression and protects against AMD-like retinopathy in OXYS rats, *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, **13**, 3499-3505, doi: 10.4161/15384101.2014.958393.
- Muraleva, N. A., Kozhevnikova, O. S., Fursova, A. Z., and Kolosova, N. G. (2019) Suppression of AMD like pathology by mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 is associated with a decrease in the accumulation of amyloid β and in mTOR activity, *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, **8**, 177, doi: 10.3390/antiox8060177.
- Markovets, A. M., Fursova, A. Z., and Kolosova, N. G. (2011) Therapeutic action of the mitochondria-targeted antioxidant SkQ1 on retinopathy in OXYS rats linked with improvement of *VEGF* and *PEDF* gene expression, *PLoS One*, **6**, e21682, doi: 10.1371/journal.pone.0021682.
- Markovets, A. M., Saprunova, V. B., Zhdankina, A. A., Fursova, A. Zh., Bakeeva, L. E., and Kolosova, N. G. (2011) Alterations of retinal pigment epithelium cause AMD-like retinopathy in senescence-accelerated OXYS rats, *Aging Albany N.Y.*, **3**, 44-54, doi: 10.18632/aging.100243.
- Telegina, D. V., Kozhevnikova, O. S., Bayborodin, S. I., and Kolosova, N. G. (2017) Contributions of age-related alterations of the retinal pigment epithelium and of glia to the AMD-like pathology in OXYS rats, *Sci. Rep.*, **7**, 41533, doi: 10.1038/srep41533.
- Kozhevnikova, O. S., Telegina, D. V., Devyatkin, V. A., and Kolosova, N. G. (2018) Involvement of the autophagic pathway in the progression of AMD-like retinopathy in senescence-accelerated OXYS rats, *Biogerontology*, **19**, 223-235, doi: 10.1007/s10522-018-9751-y.
- Telegina, D. V., Kolosova, N. G., and Kozhevnikova, O. S. (2019) Immunohistochemical localization of NGF, BDNF, and their receptors in a normal and AMD-like rat retina, *BMC Med. Genomics*, **12**, 48, doi: 10.1186/s12920-019-0493-8.
- Tyumentsev, M. A., Stefanova, N. A., Kiseleva, E. V., and Kolosova, N. G. (2018) Mitochondria with morphology characteristic for Alzheimer's disease patients are found in the brain of OXYS rats, *Biochemistry (Moscow)*, **83**, 1083-1088, doi: 10.1134/S0006297918090109.
- Kozhevnikova, O. S., Telegina, D. V., Tyumentsev, M. A., and Kolosova, N. G. (2019) Disruptions of autophagy in the rat retina with age during the development of age-related-macular-degeneration-like retinopathy, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 4804, doi: 10.3390/ijms20194804.
- Telegina, D. V., Suvorov, G. K., Kozhevnikova, O. S., and Kolosova, N. G. (2019) Mechanisms of neuronal death in the cerebral cortex during aging and development of Alzheimer's disease-like pathology in rats, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 5632, doi: 10.3390/ijms20225632.
- Jankauskas, S. S., Pevzner, I. B., Andrianova, N. V., Zorova, L. D., Popkov, V. A., et al. (2017) The age-associated loss of ischemic preconditioning in the kidney is accompanied by mitochondrial dysfunction, increased protein acetylation and decreased autophagy, *Sci. Rep.*, **7**, 44430, doi: 10.1038/srep44430.
- Pfaffl, M. W. (2001) A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR, *Nucleic Acids Res.*, **29**, 45-45, doi: 10.1093/nar/29.9.e45.
- Andersen, C. L., Jensen, J. L., and Ørntoft, T. F. (2004) Normalization of real-time quantitative reverse transcription-PCR data: a model-based variance estimation approach to identify genes suited for normalization, applied to bladder and colon cancer data sets, *Cancer Res.*, **64**, 5245-5250, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0496.
- Strauss, O. (2005) The retinal pigment epithelium in visual function, *Physiol. Rev.*, **85**, 845-881, doi: 10.1152/physrev.00021.2004.
- Tarau, I. S., Berlin, A., Curcio, C. A., and Ach, T. (2019) The cytoskeleton of the retinal pigment epithelium: from normal aging to age-related macular degeneration, *Int. J. Mol. Sci.*, **20**, 3578, doi: 10.3390/ijms20143578.
- Kolosova, N. G., Kozhevnikova, O. S., Telegina, D. V., Fursova, A. Z., Stefanova, N. A., et al. (2018) p62/SQSTM1 coding plasmid prevents age related macular degeneration in a rat model, *Aging*, **10**, 2136-2147, doi: 10.18632/aging.101537.
- Mizushima, N., Yoshimori, T., and Levine, B. (2010) Methods in mammalian autophagy research, *Cell*, **140**, 313-326, doi: 10.1016/j.cell.2010.01.028.
- Telegina, D. V., Kozhevnikova, O. S., and Kolosova, N. G. (2016) Molecular mechanisms of cell death in retina dur-

- ing development of age-related macular degeneration, *Adv. Gerontol.*, **7**, 17-24, doi: 10.1134/S2079057017010155.
29. Barbosa, M. C., Grosso, R. A., and Fader, C. M. (2019) Hallmarks of aging: an autophagic perspective, *Front. Endocrinol.*, **9**, 790, doi: 10.3389/fendo.2018.00790.
 30. Qi, X., Mitter, S. K., Yan, Y., Busik, J. V., Grant, M. B., and Boulton, M. E. (2020) Diurnal rhythmicity of autophagy is impaired in the diabetic retina, *Cells* **9**, 905, doi: 10.3390/cells9040905.
 31. Seibenhener, M. L., Du, Y., Diaz-Meco, M. T., Moscat, J., Wooten, M. C., and Wooten, M. W. (2013) A role for sequestosome 1/p62 in mitochondrial dynamics, import and genome integrity, *Biochim. Biophys. Acta*, **1833**, 452-459, doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.11.004.
 32. Kang, I., Chu, C. T., and Kaufman, B. A. (2018) The mitochondrial transcription factor TFAM in neurodegeneration: emerging evidence and mechanisms, *FEBS Lett.*, **592**, 793-811, doi: 10.1002/1873-3468.12989.
 33. Picca, A., and Lezza, A. M. (2015) Regulation of mitochondrial biogenesis through TFAM-mitochondrial DNA interactions: useful insights from aging and calorie restriction studies, *Mitochondrion*, **25**, 67-75, doi: 10.1016/j.mito.2015.10.001.
 34. Loshchenova, P. S., Sinitsyna, O. I., Fedoseeva, L. A., Stefanova, N. A., and Kolosova, N. G. (2015) Influence of antioxidant SkQ1 on accumulation of mitochondrial DNA deletions in the hippocampus of senescence-accelerated OXYS rats, *Biochemistry (Moscow)*, **80**, 596-603.
 35. Geisler, S., Holmström, K. M., Skujat, D., Fiesel, F. C., Rothfuss, O. C., Kahle, P. J., and Springer, W. (2010) PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1, *Nat. Cell Biol.*, **12**, 119-131, doi: 10.1038/ncb2012.
 36. Narendra, D., Kane, L. A., Hauser, D. N., Fearnley, I. M., and Youle, R. J. (2010) p62/SQSTM1 is required for Parkin-induced mitochondrial clustering but not mitophagy; VDAC1 is dispensable for both, *Autophagy*, **6**, 1090-1106, doi: 10.4161/auto.6.8.13426.
 37. Okatsu, K., Saisho, K., Shimanuki, M., Nakada, K., Shitara, H., et al. (2010) p62/SQSTM1 cooperates with Parkin for perinuclear clustering of depolarized mitochondria, *Genes Cells*, **15**, 887-900, doi: 10.1111/j.1365-2443.2010.01426.x.
 38. Sun, Y., Vashisht, A. A., Tchiew, J., Wohlschlegel, J. A., and Dreier, L. (2012) Voltage-dependent anion channels (VDACs) recruit Parkin to defective mitochondria to promote mitochondrial autophagy, *J. Biol. Chem.*, **287**, 40652-40660, doi: 10.1074/jbc.M112.419721.
 39. El'darov, C., Vays, V. B., Vangeli, I. M., Kolosova, N. G., and Bakeeva, L. E. (2015) Morphometric examination of mitochondrial ultrastructure in aging Cardiomyocytes, *Biochemistry (Moscow)*, **80**, 604-609, doi: 10.1134/S0006297915050132.
 40. Manczak, M., Sheiko, T., Craigen, W. J., and Reddy, P. H. (2013) Reduced VDAC1 protects against Alzheimer's disease, mitochondria, and synaptic deficiencies, *J. of Alzheimer's Disease*, **37**, 679-690, doi: 10.3233/JAD-130761.
 41. Manczak, M., and Reddy, P. H. (2013) RNA silencing of genes involved in Alzheimer's disease enhances mitochondrial function and synaptic activity, *Biochim. Biophys. Acta*, **1832**, 2368-2378, doi: 10.1016/j.bbadis.2013.09.008.
 42. Stefanova, N. A., Muraleva, N. A., Maksimova, K. Y., Rudnitskaya, E. A., Kiseleva, E., Telegina, D. V., and Kolosova, N. G. (2016) An antioxidant specifically targeting mitochondria delays progression of Alzheimer's disease-like pathology, *Aging (Albany NY)*, **8**, 2713, doi: 10.18632/aging.101054.
 43. Stefanova, N. A., Ershov, N. I., and Kolosova, N. G. (2019) Suppression of Alzheimer's disease-like pathology progression by mitochondria-targeted antioxidant SkQ1: a transcriptome profiling study, *Oxid. Med. Cell Longev.*, **2019**, 3984906, doi: 10.1155/2019/3984906.
 44. Muraleva, N. A., Stefanova, N. A., and Kolosova, N. G. (2020) SkQ1 suppresses the p38 MAPK signaling pathway involved in Alzheimer's disease-like pathology in OXYS rats, *Antioxidants*, **9**, 676, doi: 10.3390/antiox9080676.

AUTOPHAGY AS A TARGET OF RETINOPROTECTIVE EFFECTS OF MITOCHONDRIA-TARGETED ANTIOXIDANT SKQ1

D. V. Telegina¹, O. S. Kozhevnikova¹, A. Zh. Fursova¹, and N. G. Kolosova^{1,2*}

¹ Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 630090 Novosibirsk, Russia; E-mail: kolosova@bionet.nsc.ru

² Vorozhtsov Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 630090 Novosibirsk, Russia

Received July 6, 2020

Revised August 28, 2020

Accepted September 11, 2020

Age-related macular degeneration (AMD) is a complex neurodegenerative disease, a main cause of vision loss in elderly people. The pathogenesis of dry AMD, the most common form of AMD (~80% cases), involves degenerative changes in the retinal pigment epithelium (RPE), which are closely associated with the age-associated impairments in autophagy. Reversion of these degenerative changes is considered as a promising approach for the treatment of this incurable disease. The purpose of our study was to assess the relationship between previously identified retinoprotective effects of the mitochondrial antioxidant plastoquinonyl-decyl-triphenylphosphonium (SkQ1) and its influence on the autophagy process in senescence-accelerated OXYS rats characterized by the development of AMD-like retinopathy (Wistar rats were used as a control). The treatment with SkQ1 (250 nmol/kg body weight) during the period of active disease progression (from 12 to 18 months of age) completely prevented progression of clinical manifestations of retinopathy in the OXYS rats, suppressed atrophic changes in the RPE cells and activated autophagy in the retina, which was evidenced by a significant decrease in the content of the multifunctional adapter protein p62/Sqstm1 and increase in the level of the *Beclin1* gene mRNA. In general, the results obtained earlier and in the present study have shown that SkQ1 is a promising agent for prevention and suppression of AMD.

Keywords: SkQ1, age-related macular degeneration, retinal pigment epithelium, autophagy, aging, OXYS rats, p62