
ОБЗОРНЫЕ
И ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ
ДИСФУНКЦИЙ ПРИ ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНЕЙ ЦНС НА ЗЕБРАДАНИО

© 2023 г. Л. В. Юшко¹, М. М. Котова¹, Т. В. Вьюнова², А. В. Калувей^{1, 3, 4, 5, *}

¹Направление “Нейробиология”, Научный центр генетики и наук о жизни,
Научно-технологический университет “Сириус”, Федеральная территория Сириус, Россия

²Лаборатория технологий нейрореабилитации, Центр Life Improvement
by Future Technologies “LIFT”, Москва, Россия

³Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия

⁴Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова МЗ РФ,
Санкт-Петербург, Россия

⁵Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный
университет, Санкт-Петербург, Россия

*E-mail: avkalueff@gmail.com

Поступила в редакцию 09.09.2023 г.

После доработки 04.10.2023 г.

Принята к публикации 04.10.2023 г.

Нарушения функций митохондрий в клетках мозга связаны с патогенезом заболеваний различной этиологии, в том числе болезней Альцгеймера, Паркинсона и Гентингтона, бокового амиотрофического склероза, синдрома Ли, аутизма и других. Для изучения митохондриальных дисфункций и создания новых терапевтических средств большое значение имеют исследования на животных. Помимо традиционных моделей на грызунах, пресноводная костная рыба зебраданио (*zebrafish*, *Danio rerio*) представляет особый интерес как модельный объект в силу своих биологических характеристик, практичности и возможности получить большой объем экспериментальных данных. В работе обсуждаются генетические и фармакологические модели митохондриальных дисфункций и связанных с ними неврологических расстройств на грызунах и зебраданио. Приведенные данные указывают на зебраданио как эффективную трансляционную модель для изучения патогенеза различных заболеваний мозга, связанных с митохондриальными дисфункциями.

Ключевые слова: митохондрии, митохондриальные дисфункции, болезни ЦНС, модельные организмы, зебраданио

DOI: 10.31857/S0869813923110146, EDN: AFGSLI

ВВЕДЕНИЕ

Главная биологическая роль митохондрий эукариот — поддержание энергетического гомеостаза и синтез АТФ — особенно важна для мозга, потребляющего до 20% всей продуцируемой энергии организма. Митохондрии также активно вовлечены в регуляцию клеточного гомеостаза, апоптоза, биогенеза железосерных кластеров и кальция [1, 2]. Нарушение структуры и функций митохондрий приводит к снижению синтеза АТФ, продукции активных форм кислорода (АФК) и активации систем программированной гибели клетки — апоптоза, аутофагии и некроза [3], что может вызывать снижение метаболизма клеток, их дегенерацию, накопле-

ние свободных радикалов и (за счет каскада внутриклеточных реакций с ядром) изменение активности генов [4]. Гибель клеток мозга, связанная с митохондриальными дисфункциями (МД), имеет серьезные последствия для поведенческой активности, локомоции и памяти [5]. При патологиях центральной нервной системы (ЦНС), МД могут проявляться в виде локальных поражений отдельных тканей или структур (например, зрительного нерва при наследственной оптической нейропатии Лебера [6] или улитки уха при несиндромной наследственной глухоте) либо как распространенные поражения (например, при энцефаломиопатии, кардиопатии или сложных мультисистемных синдромах) на фоне атаксии, судорог, полинейропатии, пигментной ретинопатии и моторных дисфункций [7].

Нарушение синтеза АТФ и процессов окислительного фосфорилирования может быть вызвано общей дисфункцией дыхательной цепи митохондрий или дефектами ферментативных комплексов дыхательной цепи — комплексов I (НАДН: убихинонредуктаза), II (сукцинатдегидрогеназа), III (хинол-цитохром C (сyt C) редуктаза), IV (циклооксигеназа COX), V (FoF1-АТФаза) и переносчиков электронов — убихинона (кофермент Q, CoQ) и цитохрома C [2, 8]. Дыхательная цепь кодируется уникальной комбинацией двух отдельных генетических систем — ядерного и митохондриального генома. 13 ключевых структурных полипептидов, составляющих мультимерные субъединицы комплексов дыхательной цепи и АТФ-синтазы, кодируются митохондриальной ДНК (мтДНК), а также двумя рибосомальными РНК (рРНК) и 22 транспортными РНК (тРНК), необходимыми для осуществления автохтонного синтеза белка. Около 80 остальных белков, составляющих комплексы окислительного фосфорилирования, кодируются генами ядерной ДНК (ядНК). мтДНК кодирует основной механизм синтеза белка, а также репликацию, репарацию и транскрипцию, но остается полностью зависимой от ядра в отношении снабжения ферментами и вспомогательными компонентами [9]. Таким образом, источником нарушений окислительного фосфорилирования может быть как наследуемый генотип, так и цитопlasма материнской клетки [2].

МД характеризуются гетерогенной природой, проявляясь в различных возрастах и нося мультисистемный характер поражения, не всегда соответствующий генотипу пациента, что сильно осложняет диагностику и лечение [10]. Конкретные мутации мтДНК связаны со специфическими синдромами, однако одна мутация может проявляться несколькими различными фенотипами в зависимости от сегрегации мутации и уровня гетероплазмии. Например, мутация *m.3243A>G* впервые была описана в связи с классической митохондриальной энцефалопатией с лактоацидозом и синдромом инсультоподобных эпизодов, однако она же может приводить и к хронической прогрессирующей наружной офтальмоплегии, а также к наследственной глухоте и диабету по материнской линии [10, 11].

Дефекты яДНК влияют на поддержание целостности мтДНК, сборку и структуру комплексов дыхательной цепи, а также на митохондриальную динамику. Одним из наиболее распространенных дефектов яДНК являются мутации в гене *POLG*, который кодирует полимеразу мтДНК и отвечает за репликацию митохондриального генома. Мутации *POLG* приводят к ряду различных клинических фенотипов либо с ранним началом, например, при синдроме Альперса, либо с поздним началом, как при хронической прогрессирующей наружной офтальмоплегии, миоклонической эпилепсии, миопатии, сенсорной атаксии, что связано либо с накоплением множественных делеций мтДНК, либо с истощением содержания мтДНК в отдельных нейронах [8].

МД участвуют в патогенезе различных заболеваний ЦНС, например, являясь ведущим фактором развития спорадической формы болезни Альцгеймера (БА). Снижение синтеза АТФ и окислительный стресс могут приводить к гиперпродукции β -амилоида ($A\beta$), который токсичен для митохондрий, усугубляя нейродегенера-

цию на фоне накопления АФК [12, 13]. Болезнь Паркинсона (БП) – еще одно серьезное нейродегенеративное заболевание, при котором отмечаются МД и окислительный и нитрозативный стресс [14], а АФК, повреждающие белки и липиды клеток мозга, и реактивные формы азота (РФА) усугубляют нейроапоптоз [15]. Накопление α -синуклеида может приводить к МД путем ингибирования комплекса I дыхательной цепи, повышения уровня цитохрома C, изменения гомеостаза кальция и железа, гиперпродукции оксида азота NO и усиления митохондриально-го метаболизма [13, 16].

Боковой амиотрофический склероз (БАС) связан с мутациями в более чем 25 генетических локусах, среди которых наиболее часто встречаются мутации генов *SOD1*, *TARDBP* и *C9ORF72* [17]. Развитие заболевания происходит в условиях повышенной функциональной нагрузки на мотонейроны, делая их уязвимыми в связи с высокой потребностью во внутриклеточном кальции, снижая экспрессию кальций-связывающих белков, глутаматных α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионатных (AMPA) рецепторов, а также ряда антиоксидантов и антиапоптотических факторов. В результате активации мотонейронов наблюдается глутаматная эксайтотоксичность, накопление внутриклеточного кальция, активация внутриклеточных протеолитических ферментов, выделение избытка свободных радикалов из митохондрий и повреждение ими микро- и астроглии, а также самих мотонейронов с их последующей дегенерацией [7, 13].

Ряд мутаций мтДНК увеличивает риск проявления расстройств аутистического спектра (РАС). Например, аутисты часто несут гетероплазматические мутации в непалиморфных участках митохондриального генома [18]. У детей с РАС в полтора раза больше несинонимичных мутаций (приводящих к замене аминокислот в кодируемом белке) и в 2.2 раза больше предполагаемых патогенных мутаций, чем у их здоровых братьев и сестер [19]. При биполярном расстройстве отмечается неэффективный энергетический гомеостаз в головном мозге, снижение митохондриального дыхания и внутриклеточного pH, изменения в митохондриальной морфологии, увеличение полиморфизма мтДНК, подавление молекул ядерной мРНК и белков, участвующих в митохондриальном дыхании, снижение жизнеспособности нейронов. Затрагивающая комплекс I дыхательной цепи мутация в транслокаторе адениновых нуклеотидов 1 может повышать риск развития биполярного расстройства за счет сложного взаимодействия между серотонином и функционированием митохондрий в структурах ЦНС [7].

Анализ биохимических и биосинтетических изменений клеток ЦНС при шизофрении демонстрирует морфологическую аберрацию митохондрий, нарушение окислительного фосфорилирования и регуляции экспрессии генов митохондриальных белков [7]. При шизофрении также уменьшено количество митохондрий в лобной коре, хвостом ядра и коре, снижена активность звеньев дыхательной цепи в лобной (комплекс IV) и височной коре (комплексы I, III и IV), а также в базальных ганглиях (комплексы I и III) головного мозга, что демонстрирует мульти-системный характер МД [20].

Среди основных заболеваний ЦНС с МД наиболее часто встречаются БА и БП, болезнь Гентингтона (БГ), БАС, синдром Ли, РАС, биполярное аффективное расстройство и шизофрения [21]. Например, синдром Ли (подострая некротизирующая энцефаломиелопатия) представляет собой прогрессирующее неврологическое заболевание, в результате которого поражается ствол головного мозга и базальные ганглии. Первыми симптомами являются потеря двигательных навыков, мышечная гипотония с плохим удержанием головы, повторная рвота и двигательные нарушения, затем развиваются пирамидные и экстрапирамидные нарушения, нистагм, нарушения дыхания, офтальмоплегия и периферическая нейропатия, иногда наблюдается эпилепсия [22]. Заболевание генетически гетерогенное и связано с

нарушением аэробного образования энергии, от дефектов пируватдегидрогеназного комплекса до нарушений окислительного фосфорилирования [23]. Биполярные расстройства — периодические аффективные нарушения, для которых характерна смена маниакальных и депрессивных эпизодов, в результате чего настроение и активность пациента нарушаются, что выражается в подъеме (мания или гипомания) или снижении (депрессия) [24]. Порядка 20% пациентов с МД имеют биполярное расстройство, а 0.38% пациентов с биполярным расстройством имеют мутации ДНК-полимеразы гамма (*POLG*), вызывающие МД [7].

Митохондриальные и неврологические дисфункции в моделях на грызунах

Необходимым условием разработки эффективной терапии заболеваний ЦНС с МД является понимание их патогенеза на биохимическом, клеточном и тканевом уровнях. Десятилетиями грызуны являются популярными модельными организмами для исследования патогенеза болезней ЦНС человека [13]. Например, для моделирования БА на грызунах важное значение имеет отображение патологических признаков возрастной нейродегенерации. Поэтому для изучения МД при спорадической БА широко используется линия преждевременно стареющих крыс OXYS, которые проявляют ускоренное старение мозга на фоне признаков БА — деструктивных изменений нейронов и их гибели, синаптической недостаточности, МД, гиперфосфорилирования тау-белка, повышенного накопления А β в мозге, а также расстройств поведения, обучения и памяти [25].

Модели мышей с усиленной экспрессией гена *DYRK1A* созданы для исследования эффективности действия препаратов, снижающих проявления признаков БА. Этот ген участвует в фосфорилировании белков, характерных для патогенеза БА [26]. Модель мышей Tg2576 создавалась для исследования терапевтические стратегий лечения БА [27]. У данных мышей сверхэкспрессирована мутантная форма гена *APP*, и отмечается образование амилоидных бляшек в раннем возрасте, а также другие нарушения ЦНС, сопровождающие БА — возрастные нарушения пространственного обучения, рабочей и аверсивной памяти [28]. Модель мышей APP23 характеризуется 7-кратной сверхэкспрессией мутантного человеческого *APP*, белка-предшественника амилоида человека [29]. У мышей развивается обширная патология А β уже в возрасте 6 месяцев. Амилоидные бляшки увеличиваются в размере и количестве с возрастом, накапливаясь в неокортексе и гиппокампе у 24-месячных мышей, окруженные активированной микроглией, астроцитами и дистрофическими нейритами, содержащими гиперфосфорилированный тау [30].

Генетические модели БП создавались путем модификации гена митохондриального фактора транскрипции А, продукт которого является активатором транскрипции и выполняет ряд функций в митохондриях, включая связывание с промотором мтДНК для активации митохондриальной транскрипции, обеспечение РНК-праймеров для облегчения репликации мтДНК, а также играет гистонподобную роль, покрывая мтДНК [13]. Кроме того, для моделирования БП используют ряд нейротоксинов — 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП), паракват, манеб, 6-гидроксидофамин и пестицидоаротенон [31].

Модель мышей MILON характеризуется МД и постнатальным нарушением окислительного фосфорилирования в нейронах переднего мозга. Мыши MILON были созданы для изучения эффектов мозаичного паттерна дикого типа и истощения мтДНК в нейронах переднего мозга. У них наблюдается снижение количества копий мтДНК в неокортексе, и животные умирают в течение 2–3 недель после начала заболевания на фоне дегенерации неокортекса и гиппокампа, дегенерации аксонов и глиоза [32]. У мышей MitoPark элиминирован ген *TFAM*, который кодируется в ядерном геноме, а его продукт транспортируется в митохондрии, где дей-

ствует как ДНК-связывающий белок, необходимый для транскрипции и поддержания мтДНК у млекопитающих. Этот ген кодируется в ядерном геноме, а TFAM транспортируется в митохондрии, где действует как ДНК-связывающий белок, необходимый для транскрипции и поддержания мтДНК у млекопитающих. Он стабилизирует мтДНК, регулирует число копий мтДНК *in vivo* и необходим для митохондриального биогенеза. У мышей MitoPark элиминация гена проявляется в виде медленного развития БП-подобного фенотипа в возрасте 12 недель, в том числе — внутриклеточных включений в дофаминергических нейронах, дегенерации дофаминовых путей, потери стриарного дофамина, дефицита моторики и дегенерации дофаминергических нейронов черной субстанции [33].

Нейротоксин МФТП при введении мышам превращается в ион N-метил-4-фенилпиридиния МПП+, позволяя моделировать ранние стадии БП за счет токсичности для дофаминергических нейронов стриатума и подавления комплекса I дыхательной цепи, что угнетает синтез АТФ и способствует накоплению свободных радикалов и гибели клеток [31]. Пестицид ротенон вызывает гибель дофаминергических нейронов в черной субстанции, повреждение протеасомной системы, белка DJ-1 и α -синуклеина, а также брадикинезию, ригидность мышц, нарушение осанки, скованность движений, характерную для БП [34]. Ингибиторы комплекса I и другие нейротоксины, такие как паракват, манеб, 6-гидроксидофамин (который также ингибирует митохондриальный комплекс IV и моноаминоксидазу) вызывает признаки БП у людей и экспериментальных животных [35].

Для исследования РАС применяют мышей с мутацией гена *DYRK1A* [26]. Ген *DYRK1A* кодирует киназу A, которая катализирует перенос фосфатной группы от АТФ на другие субстраты. У данных мышей наблюдаются значительные нарушения в обучении и когнитивной гибкости, коммуникативных ультразвуковых вокализациях и социальных контактах, а также повышенная восприимчивость к судорогам, вызванным гипертермией [26]. Мыши Ts65Dn обладают меньшим размером мозга ввиду снижения количества клеток в переднем мозге и являются генетической моделью синдрома Дауна. У них показана коррекция обучения и памяти путем воздействия на системы гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) и глутамата [36].

Для исследования БГ созданы мыши с замещением *HTT* на мутантный (*mhtt*)-knock-in) ген. У них отмечают биоэнергетический дефицит и МД с выраженной потерей веса при устойчивом потреблении калорий, увеличением лактата в коре и базальных ганглиях, снижением активности комплексов II и III, а также аконитазы в базальных ганглиях [37]. Фармакологическое моделирование БГ на мышах производится с использованием митохондриального токсина 3-нитропропионовой кислоты (3-NPA) и проявляется в виде прогрессирующей потери средних шипиковых нейронов в стриатуме, а также атрофии коры и дегенерации других отделов мозга на поздних стадиях заболевания [35].

Мыши с нокаутным геном *NDUFS4*, кодирующем субъединицу S4 комплекса I, демонстрируют фенотип синдрома Ли — быстро прогрессирующие нарушения походки, затрудненное дыхание и смерть к 7-недельному возрасту. Нейропатологические признаки включают дефицит комплекса I дыхательной цепи, спонгиоз, поражения обонятельных луковиц, мозжечка и вестибулярных ядер, сопровождающиеся прогрессирующей глиальной активацией и нейровоспалением [38]. Наблюдается облегчение патогенеза хронической гипоксией (11% кислорода), в том числе — увеличение продолжительности жизни, улучшение координации движений и снижение нейровоспаления [39].

Для исследования митохондриальной энцефаломии созданы нокаутные мыши, лишённые гена *RISP*, кодирующего каталитическую субъединицу комплекса III — железо-серный кластерный белок Риске. Исследования течения митохондриальной энцефалопатии на данной модели подтвердило дефицит комплекса III в ней-

ронах переднего мозга и высокий уровень окислительного стресса в оставшихся нейронах, особенно затрагивающий грушевидную кору. Для мышей при этой модели отмечалось быстрое прогрессирование заболевания с 2 мес., нарушения локомоции в ротароде и смерть к 3–3.5 мес. [40]. Еще одной моделью для исследования митохондриальной энцефалопатии стали мыши с нокаутом гена *COX10*, кодирующего вспомогательный белок, участвующий в сборке COX. Данная модель применялась для исследования уровня окислительного стресса в нейронах переднего мозга и, в отличие от мышей RISP нокаутов, плохие результаты в ротароде эти животные демонстрировали в 3 мес., доживая до 8–12 мес. (на фоне уязвимости поясной коры и окислительным стрессом в оставшихся нейронах) [40]. Табл. 1 суммирует некоторые модели МД и нарушений ЦНС на грызунах.

*Применение рыб зебраданио как модельного организма
для изучения нейробиологии митохондриальных дисфункций*

Выбор адекватного модельного организма критичен для трансляционности результатов доклинических исследований [45]. Благодаря особенностям своей генетики, анатомии и физиологии, одним из основных видов для нейробиологических и фармакологических исследований (наравне с грызунами) является небольшая пресноводная костная рыба зебраданио (zebrafish, *Danio rerio*) [46]. Нервная система зебраданио гомологична нервной системе человека, и многие белки мозга рыб имеют сходные с человеком паттерны экспрессии, связывания и сигналинга [47]. С точки зрения генетики, зебраданио являются хорошим модельным объектом, поскольку их геном полностью секвенирован [48], гены демонстрируют высокую степень синтении среди видов позвоночных и 70% из них имеют ортологи у человека [49]. Биологическими характеристиками зебраданио, делающими их привлекательным модельным объектом, являются малые размеры тела, быстрое развитие нервной системы в онтогенезе, раннее созревание, внешнее оплодотворение, развитие эмбрионов вне материнского организма [50] и хорошо описанный спектр поведенческих реакций [48]. Существуют и практические преимущества использования зебраданио в качестве модельного организма — они экономичны в содержании и легко поддаются разведению, что обеспечивает проведение массовых экспериментов и получение большого объема экспериментальных данных [51].

В целом, функционирование митохондрий у рыб и млекопитающих сходно, что позволяет экстраполировать многие результаты экспериментов с зебраданио на человека. Самое значительно различие митохондрий рыб и человека заключается в генетической организации мтДНК и яДНК. У человека мтДНК — небольшая кольцевая структура, в то время как у рыб она содержит значительно больше генов и способна на большую генетическую изменчивость в результате дупликации генома во время эволюции костистых рыб. Таким образом, у зебраданио специфические функции могут быть разделены между двумя дублированными генами, потеряны, нарушены для одного из генов или даже дополнены, если нарушена одна из двух копий. Тем не менее, в некоторых случаях дупликация увеличивают возможность получения информации о приобретении/утрате некоторых функций генов [52]. Существующие сходства и различия необходимо учитывать при применении рыб в качестве модельных организмов для изучения патогенеза заболеваний ЦНС человека.

Зебраданио применяются для изучения различных аспектов митохондриальной физиологии, например, динамики клеточной митохондриальной сети, митохондриального жизненного цикла и изменений мтДНК [53]. Для изучения изменений митохондриальной морфологии в режиме реального времени используются трансгенные модели зебраданио, экспрессирующие митохондрио-специфические флуоресцентные белки [54]. С целью изучения “жизненного цикла” митохондрий и их дина-

Таблица 1. Модели дисфункций ЦНС на грызунах, связанные с нарушением митохондриальных функций

Название линии	Моделируемое заболевание	Ген	Моделируемое состояние	Патологический фенотип	Применение в исследованиях	Источник
DYRK1A	Расстройство аутистического спектра (РАС)	<i>DYRK1A</i> мутация сдвига рамки считывания	Нарушение обучения, ультразвуковых vocalizations и социальный контакт, повышение судорожной чувствительности	Галлонедостаточность по <i>DYRK1A</i> , дисморфология, когнитивные и неврологические	Изучение механизмов, приводящих к РАС, задержка речи и фебрильным припадкам	[26]
Ts65Dn	Синдром Дауна	Сегментарная трисомия 16	Фенотипы синдрома Дауна, включая поведенческие и когнитивные нарушения	Уменьшение мозга за счет снижения числа нейронов в переднем мозге. Нарушение синаптической пластичности и нейрогенеза, моторная дисфункция и возрастная хроническая нейродегенерация	Корректирующее воздействие препаратов, исследование физиологии систем органов чувств и активности мозга при синдроме Дауна, а также генной структуры и развития патологии	[36] [41]
Tg2576	Болезнь Альцгеймера (БА)	<i>APP</i> KM670/671NL	Синаптические и когнитивные дефекты на ранних стадиях заболевания, накопление амилоидных бляшек по мере их прогрессирования	Нормальное развитие, к 11–13 мес. когнитивные нарушения, образование многочисленных паренхиматозных бляшек, прогрессирующее ухудшение когнитивных процессов	Течение БА для анализа патофизиологии и поиска новых терапевтических мишеней	[27]
APP23	БА	Ген <i>APP</i> KM670/671NL Ген <i>PSEN1</i> : deltaE9	Синаптические и когнитивные дефекты на поздних стадиях развития заболевания после начала отложения бляшек	Видимое отложение бляшек формируется в возрасте 6 месяцев и особенно в 18 месяцев	Разработка терапевтических стратегий для лечения БА	[42]
MILON	БП		Нейродегенерация вследствие нарушений в комплексе I дыхательной цепи	Быстро прогрессирующая митохондриальная дегенерация и гибель клеток в гипоталамусе и неокортексе с 5-го месяца, постнатальное нарушение окислительного фосфорилирования в нейронах переднего мозга, снижение уровня мтДНК с 2- и мРНК с 4-месячного возраста	Исследование роли дефицита дыхательной цепи в нейродегенерации и старении	[32]

Таблица 1. Окончание

Название линии	Моделируемое заболевание	Ген	Моделируемое состояние	Патологический фенотип	Применение в исследованиях	Источник
MitoPark	Болезнь Паркинсона (БП)		Дефицит моторики, истощение дофамина и дегенерация компактной черной субстанции	Воспроизводство ряда симптомов БП в результате отсутствия митохондриального фактора транскрипции <i>Pfam</i> в дофаминергических нейронах среднего мозга	Исследование медленного и прогрессирующего развития БП с возраста 12 нед.	[43]
NDUFS4	Синдром Ли	<i>NDUFS4</i> (нокаут)	Патологическая картина синдрома с типичными соматическими проявлениями	Отсутствует убихинооксидоредуктаза. У мышей происходят быстро прогрессирующие нарушения походки, затрудненное дыхание и смерть к возрасту 7 нед.	Изучение патофизиологических механизмов синдрома (спонгиоз обонятельной луковицы, мозжечка и вентилулярных ядер сопровождается нейровоспалением), исследование влияния хронической гипоксии для облегчения течения заболевания	[38]
RISP-KO	Митохондриальная энцефалопатия	<i>RISP</i> (нокаут)	Нарушение в комплексе III дыхательной цепи	Отсутствие в комплексе III железосерного кластерного белка Рискс. быстрое прогрессирующее нейродегенерации с 2 мес., смерть в возрасте 3–3,5 мес.	Исследование специфических эффектов на нейроны переднего мозга	[40]
COX10-KO	Митохондриальная энцефалопатия	<i>COX10</i> (нокаут)	Нарушение в комплексе IV дыхательной цепи	Отсутствие вспомогательного белка, участвующего в сборке COX. Мыши доживают до 8–12 мес. с уязвимостью поясной коры и окислительным стрессом в мозге	Исследование уровня окислительного стресса в нейронах переднего мозга	[40]
OXYS (крысы)	БА		Раннее старение и связанная с ним нейродегенерация	Преждевременное старение (ускоренная инволюция тимуса, гипертрофическая кардиомиопатия миокарда и другие) с ранним развитием катаракты (в возрасте 6 мес.)	Изучение нейродегенеративных процессов, связанных со старением, в частности, роли окислительного стресса в мозге	[44]

мики в нейронах созданы трансгенные зебраданио с использованием Gal4/UAS, который позволяет экспрессировать меченые митохондрии [55]. Линии зебраданио с флуоресцентно меченными митохондриями используются для изучения митохондриального транспорта, связанного с неврологическими заболеваниями в сенсорных нейронах Рохона—Беарда, ганглиозных клетках сетчатки, моторных и дофаминергических нейронах [54]. Также оптимизирована прямая визуализация митохондрий, анализ их жизни и функции в аксонах задней боковой линии зебраданио [56].

Наконец, исследовать окислительный стресс у рыб можно путем отслеживания образования АФК окислительным флуоресцентным красителем дигидрородамином-123 (DHR-123) [57]. Разработан логометрический двухфотонный флуоресцентный зонд (Mito-MQ) для измерения уровня цистеина и гомоцистеина в митохондриях *in vivo* на 5-дневных личинках зебраданио [58]. Эмбрионы зебраданио позволяют оценить мтДНК на разных стадиях развития и пространственную экспрессию генов, регулирующих биогенез мтДНК и комплексов дыхательной цепи [59]. Таким образом, данные модели служат отправной точкой для проведения дальнейших исследований функционирования митохондрий в нормальном и патологическом состоянии ЦНС зебраданио.

Существует целый ряд моделей связанных с МД расстройств ЦНС на зебраданио. Например, нокдаун гена *NDUFAF7* у зебраданио применен для исследования влияния экспрессии этого гена на сборку комплекса I. Нарушения в его работе обуславливают снижение внутриклеточных АФК и АТФ и коррелируют с патологической миопией. У зебраданио также зафиксирована задержка выплывания и морфологические аномалии — дефекты развития энтодермы, сердечной функции и плавательного поведения из-за мутаций в гене *COXV* и *SURF1* (структурного компонента COX и фактора его сборки соответственно). Мутации гена *COA6*, чья функция заключается в регуляции пути транспорта меди, у модельных рыб провоцируют пороки развития сердца. Перечисленные мутации являются моделью классического синдрома Ли, фатального дефицита COX у детей, а также гипертрофической кардио- и миопатии [60].

Xavier — линия рыб с инактивированным геном *ETFDH*, который кодирует убихинон-оксидоредуктазу — электрон-транспортный флавопротеин, обеспечивающий перенос электронов с различных дегидрогеназ в дыхательную цепь. У модельных рыб инактивация гена приводит к тяжелым метаболическим нарушениям — измененному энергетическому обмену, нарушению регуляции продукции АФК, увеличенному аэробному гликолизу, дефектам подвижности, аномальному формированию глиального паттерна, снижению ветвления моторных аксонов и числа нервно-мышечных синапсов [57]. Линия *scn1Lab* создана для исследования синдрома Драве — тяжелой генетической формы эпилепсии, связанной с мутациями гена *SCN1A*, кодирующего субъединицу натриевого канала. У рыб-мутантов наблюдается повышенная судорожная активность и ускоренный гликолиз. Снижение активности комплекса I вызвано окислительным стрессом и посттрансляционной окислительной модификацией, провоцируя судороги [61].

Линия зебраданио с ноккаутом по гену *PINK1* применяется для изучения БП. *PINK1* кодирует митохондриальную серин/треонинкиназу, нейропротекторный белок, способствующий очищению поврежденных митохондрий посредством аутофагии. У модельных рыб наблюдаются МД и потеря дофаминергических нейронов. Данная линия использована для разработки нового класса стресс-зависимых препаратов, стимулирующих аутофагию, для предотвращения потери дофаминергических нейронов в модели зебраданио с БП [62].

Зебраданио с нокдауном гена *MFN2* применяются для изучения двух наследственных нейродегенеративных заболеваний человека — аксональной периферической невропатии и доминантной атрофии зрительного нерва [63]. *MFN2* кодирует

митохондриальный мембранный белок митофузин-2 — трансмембранную ГТФ-азу, который участвует в слиянии митохондрий. У рыб с мутацией *MFN2* отмечается незначительное изменение структуры митохондриальной сети, но значительные двигательные нарушения или отсутствие реакции на прикосновение. Выявлено генерализованное нарушение аксональной структуры первичных двигательных нейронов, сопровождающееся наличием укороченных или отсутствующих аксонов, измененным распределением ацетилхолиновых рецепторов с уменьшением количества и размеров их скоплений [64].

Зебраданию с мутацией в гене *KIF5A* моделируют фенотип аксональной периферической невропатии. *KIF5A* кодирует белок, который относится к суперсемейству белков кинезинов, они входят в состав мультисубъединичного комплекса, отвечающего за перемещение органелл по микротрубочкам. Зебраданию с мутацией *KIF5A* демонстрируют смертность личинок и сенсомоторный дефицит, повышенную возбудимость, периферическую полинейропатию и аксональную дегенерацию [65]. Зебраданию с мутацией гена *SLC25A1* моделируют врожденный миастенический синдром или более тяжелую комбинированную D-2- и L-2-гидроксиглутаровую ацидурию [53]. Белок *SLC25A1* является переносчиком митохондриального цитрата, который опосредует обмен митохондриального цитрата/изоцитрата на цитозольный малат, участвует в биосинтезе жирных кислот и стеролов, глюконеогенезе и гликолизе, поддержании целостности хромосом и регуляции аутофагии [66]. Модель зебраданию с нокаутом двух ортологов *SLC25A1* демонстрирует характерные черты миастенического синдрома — отек заднего мозга, сердца, желточного мешка и хвоста, аномальное развитие сердца со сниженным притоком крови к хвосту (при тяжелых фенотипах), измененная морфология хвоста, нарушение плавания и избегание прикосновения. Отмечается нарушение в структуре синапсов двигательных аксонов и мышечных волокон, проявляющееся в виде отростков от окончаний двигательных аксонов без полного формирования синапса [67].

Мутации в гене *OPA3* у зебраданию моделируют нейроофтальмологическое заболевание человека — синдром Костеффа, характеризующееся повышенной экскрецией с мочой 3-метилглутаконовой и 3-метилглутаровой кислот, ранним началом атрофии зрительного нерва и более поздним появлением спастичности и экстрапирамидных признаков [68]. Ген кодирует белок *OPA3*, функция которого связана с транспортом липидов митохондрий и формированием их структуры. При моделировании мутации гена у зебраданию отмечается повышение уровня 3-метилглутаконовой кислоты. У рыб не наблюдается характерные для патогенеза потеря зрения, гиперрефлексия и спастичность, но проявляются пенетрантное поведение, напоминающее атаксию и экстрапирамидные (брадикинезия) признаки, наблюдаемые при синдроме Костеффа [69].

Нарушения комплекса пируватдегидрогеназы (PDHC) моделируются на зебраданию для исследования тяжелых заболеваний детей — врожденного молочнокислого ацидоза, задержки роста и синдрома Ли. PDHC представляет собой мультиферментный комплекс митохондриального матрикса, который катализирует необратимое превращение пирувата в ацетильную форму коэнзима А и играет центральную роль в связывании гликолиза с циклом трикарбоновых кислот и путями липогенеза [53]. Спонтанные мутации зебраданию с дефицитом PDHC демонстрирует фенотипы, сходные с человеческими, отмечаются аномалии сетчатки, дефекты синаптической передачи и светоадаптации в колбочках, преждевременная смерть, вялость, расширенные меланофоры, исчезновение пищевого поведения. При этом отмечается нормализация состояния моделей зебраданию при введении кетогенной диеты, сходной с общепринятой терапией, предложенной для детей с дефицитом PDHC [52].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Число выявленных мутаций, связанных с МД в ЦНС, продолжает расти благодаря использованию секвенирования нового поколения в диагностике неврологических заболеваний человека [70]. Зебраданию сегодня активно применяются в качестве генетических и фармакологических моделей различных МД при заболеваниях ЦНС, включая БП, БА, БГ, БАС, синдром Ли и РАС. Большое количество новых генотипов и созданных линий зебраданию, новые инструменты, разработанные для анализа скорости и эффективности процессов и состояния генетического материала митохондрий у зебраданию, в сочетании с использованием систем редактирования генома, позволили прояснить роль конкретных генов, участвующих в МД и неврологических расстройствах, и их связь с болезнями человека.

Дальнейшее исследование связи МД с заболеваниями ЦНС имеет важное значение по ряду причин. Во-первых, выявление эволюционно-консервативных механизмов, ответственных за МД в мозге, позволяет лучше понять патогенез данной группы неврологических заболеваний. Моделирование данных состояний на животных и изучение процессов, сопровождающих МД на клеточном и биохимическом уровнях, позволит понять причину и последовательность патологических процессов, выявить мишени для лекарственной протекции, а также разработать препараты, направленные на предупреждение нарушений и восстановление функций митохондрий.

Другой важной задачей моделирования патофизиологии ЦНС на животных является преодоление разрыва между данными, полученными в ходе доклинических экспериментов и реальными пациентами. Как с любым другим модельным организмом, применение рыб для исследования патологий ЦНС человека имеет ряд ограничений. Одним из таких ограничений является филогенетическое: нервная система рыб в сравнении с млекопитающими устроена более просто, что может препятствовать изучению ряда сложных процессов, присущих высшим организмам [45]. Еще одна особенность возникает в связи с разошедшимися у рыб и млекопитающих эволюционными путями, в частности, с дупликацией генома, характерной для всех костных рыб [52]. Например, у зебраданию наблюдается два паралога гена белка HIF-1 α (фактор 1, индуцируемый гипоксией), который синтезируется в ответ на гипоксический стресс и участвует в регуляции функционирования митохондрий. При этом их функции несколько различаются, Hif-1aa регулирует активность митохондриального комплекса II, а Hif-1ab регулирует работу комплексов I, III и IV [71]. Для МД также характерна гетерогенная природа, при которой одна мутация может проявляться разными фенотипами [72]. В данном случае дупликация генома зебраданию может привести дополнительные вариации в фенотипические проявления при моделировании заболеваний.

Как и на любом модельном организме, на рыбах невозможно моделировать ряд патологий ЦНС человека [45]. Необходимо также учитывать особенности и ограничения, связанные с высоким уровнем нейрорегенерации у зебраданию [73]. Так, поскольку к болезням, связанным с МД, относится ряд нейродегенеративных заболеваний, при использовании зебраданию для оценки их терапии могут возникнуть сложности с различением терапевтического эффекта и базального уровня нейрорегенерации. К тому же открытым остается вопрос о том, насколько подходят для изучения нейродегенеративных заболеваний животные, у которых в естественной среде они не наблюдаются. Поэтому для глубокого понимания этиологии патологий ЦНС и разработки лечения необходимы комплексные исследования, использующие несколько модельных организмов и формирующие значительную базу экспериментальных данных.

Таблица 2. Некоторые открытые вопросы в области исследований митохондриальных дисфункций

Открытые вопросы
• Гетерогенная природа митохондриальных дисфункций (МД) значительно осложняет диагностику заболеваний. Какие новые подходы диагностики можно разработать и какие дополнительные маркеры использовать? • Одна и та же мутация мтДНК может вызвать разные фенотипические проявления МД. Как можно преодолеть эту проблему при создании экспериментальных генетических моделей? • Каков механизм взаимосвязи между МД и развитием болезни Альцгеймера (БА)? • В 95% случаев встречается спорадическая форма БА, однако на зебраданио разработаны в основном генетические модели БА. Можно ли создать негенетическую модель БА для изучения роли МД при развитии болезни? • Можно ли создать фармакологические модели МД на зебраданио на основе мышинных моделей, например, с помощью ингибиторов комплекса I? • Насколько в целом животные, у которых в естественных условиях не встречается нейродегенерация, подходят для изучения данных заболеваний, в особенности зебраданио, у которых также наблюдается высокий уровень нейрорегенерации? • Показано, что гипоксия способствует улучшению состояния генетической мышинной модели синдрома Ли [74]. Будет ли распространяться подобный эффект на другие МД? Может ли гипоксия рассматриваться в качестве терапевтической стратегии, учитывая ее самостоятельный негативный эффект? • Какова взаимосвязь между лизосомальной и МД при БП [75]? • Известно, что расстройства аутистического спектра (РАС) имеют очень разнообразный патогенез, но описаны только некоторые механизмы взаимосвязи РАС и окислительно-го стресса [76]. Какие дополнительные механизмы связи между РАС и МД существуют? • Известно, что на развитие некоторых болезней (например, БА) влияет образ жизни [76]. Вносит ли образ жизни значимый вклад в развитие других болезней, ассоциированных с МД? • Может ли изменение образа жизни рассматриваться в качестве терапевтической стратегии для таких заболеваний? • Можно ли подобрать универсальную терапевтическую мишень, воздействие на которую хотя бы частично облегчит протекание заболеваний, связанных с митохондриальными дисфункциями? • Предполагается, что МД тесно связана с воспалительным процессом в патогенезе РАС [78]. Может ли использование противовоспалительных агентов рассматриваться в качестве терапевтической стратегии в данном случае? Может ли использоваться такая стратегия в случае других заболеваний, связанных с МД? • Каков вклад МД глии (микроглии и астроцитов) в патогенез заболеваний ЦНС?

Дальнейшие исследования МД в ЦНС могут быть ориентированы на несколько различных аспектов — уточнение роли митохондрий в реализации функций клеток мозга, изучение механизма МД при различных заболеваниях ЦНС на моделях зебраданио, разработка и доклинические испытания новых терапевтических средств для коррекции патологических состояний, а также оценка роли микроглии и астроцитов при МД в мозге. Для определения роли митохондрий в функционировании ЦНС необходимо отслеживание изменений в энергетическом балансе клеток, метаболизме и связанных с этим генных и эпигенных факторов. Также необходимо и более глубокое изучение самих МД в мозге. Так, активно исследуются нарушения окислительного фосфорилирования, изменения в структурных компонентах митохондрий (внутренней и внешней мембранах, матриксе), генетические нарушения со стороны мтДНК или яДНК и их взаимодействие, а также связь патологических изменений морфологии митохондрий с нарушением функций нервных клеток.

Также важно исследовать роль МД в патогенезе заболеваний ЦНС, связанных со старением (БП, БА, БАС и другие), для чего необходимо моделирование этих

заболеваний *in vivo*. С учетом активных исследований в данном направлении можно в скором времени ожидать получение более полной картины патогенеза многих заболеваний и переход к формированию методик их профилактики и лечения, в том числе препаратов, генной терапии или других методов, направленных на восстановление функции митохондрий. Наконец, существует ряд заболеваний ЦНС человека, которые еще не были смоделированы на зебрадании, и поэтому создание новых генетических и фармакологических моделей МД для изучения механизмов заболеваний ЦНС также необходимо (табл. 2). Понимание биоэнергетических и биосинтетических процессов, происходящих в митохондриях как в норме, так и при различных патологиях, является необходимым условием для поиска мишеней терапевтического воздействия. Модели МД на зебрадании подобраны не для всех заболеваний, и поэтому создание на рыбах новых моделей является одним из критичных направлений исследований патогенеза широкого спектра болезней ЦНС.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит исследований с использованием животных или участием людей в качестве объектов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Настоящая работа поддержана субсидией Министерства науки и высшего образования РФ (соглашение № 075-10-2021-093). Коллаборация А.В.К. поддержана средствами Санкт-Петербургского государственного университета (проект 93020614).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие конфликтов интересов, связанных с публикацией.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея статьи (А.В.К.), подготовка черновика статьи (Л.В.Ю., М.М.К.), редактирование и подготовка финальной версии (А.В.К., Л.В.Ю., Т.В.В., М.М.К.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Murali Mahadevan H, Hashemiaghdam A, Ashrafi G, Harbauer AB* (2021) Mitochondria in Neuronal Health: From Energy Metabolism to Parkinson's Disease. *Adv Biol* 5(9): e2100663. <https://doi.org/10.1002/adbi.202100663>
2. Физиология человека с основами патофизиологии (2019) в 2 т. Т 1 под ред *РФ Шмидта, Ф Ланга, М Хекманна*; пер с нем под ред МА Каменской. М. Лаборатория знаний. [Human physiology with the basics of pathophysiology (2019) in 2 vol. Vol 1 eds *RF Schmidt, F Lang, M Heckmann*; translation from German edited by MA Kamenskaya. M. Knowledge Laboratory. (In Russ)].
3. *Johnson, J, Mercado-Ayon E, Mercado-Ayon Y, Dong YN, Halawani S, Ngaba L, Lynch DR* (2021) Mitochondrial dysfunction in the development and progression of neurodegenerative diseases. *Arch Biochem Biophys* 702: 108698. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2020.108698>
4. *Knedlik T, Giacomello M* (2022) Mitochondria and Central Nervous System Disorders. *Biomolecules* 12(10): 1414. <https://doi.org/10.3390/biom12101414>
5. *Finsterer J* (2012) Cognitive dysfunction in mitochondrial disorders. *Acta Neurol Scand* 126(1): 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.2012.01649.x>
6. 9C40.8 — наследственная оптическая нейропатия 2023 <https://mkb11.online/107396>
7. *Socolik O, Prozorova G* (2022) Analysis of significance of mitochondrial dysfunction in the pathogenesis of diseases of the central nervous system. *Neurosci Res Notes* 5 (3): 1–10. <https://doi.org/10.3117/neuroscirn.v5i3.151>

8. *Lax NZ, Gorman GS, Turnbull DM* (2017) Review: Central nervous system involvement in mitochondrial disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 43(2): 102–118.
<https://doi.org/10.1111/nan.12333>
9. *DiMauro S, Schon EA* (2003) Mitochondrial respiratory-chain diseases. *New Eng J Med* 348(26): 2656–2668.
<https://doi.org/10.1056/NEJMra022567>
10. *Klopstock T, Priglinger C, Yilmaz A, Kornblum C, Distelmaier F, Prokisch H* (2021) Mitochondrial Disorders. *Deutsches Arzteblatt Intl* 118(44): 741–748.
<https://doi.org/10.3238/arztebl.m2021.0251>
11. *Li D, Liang C, Zhang T, Marley JL., Zou W, Lian M, Ji D* (2022) Pathogenic mitochondrial DNA 3243A>G mutation: From genetics to phenotype. *Front Gen* 13: 951185.
<https://doi.org/10.3389/fgene.2022.951185>
12. *Зарипов С, Маматов Ж, Касимов А, Мамурова М* (2023) Нарушение функции митохондрий при нейродегенеративных заболеваниях (литературный обзор). *Евраз журн академ исследован* 3(6 Part 3): 169–177. [*Zaripov S, Mamatov Zh, Kasimov A, Mamurova M* (2023) Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases (literature review). *Euras J Acad Res* 3(6 Part 3): 169–177. (In Russ)].
<https://in-academy.uz/index.php/ejar/article/view/18388>
13. *Johri A, Beal MF* (2012) Mitochondrial dysfunction in neurodegenerative diseases. *J Pharm Exper Ther* 342(3): 619–630.
<https://doi.org/10.1124/jpet.112.192138>
14. *Du T, Wang L, Liu W, Zhu G, Chen Y, Zhang J* (2021) Biomarkers and the Role of α -Synuclein in Parkinson's Disease. *Front Aging Neurosci* 13: 645996.
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.645996>
15. *Zhou C, Huang Y, Przedborski S* (2008) Oxidative stress in Parkinson's disease: a mechanism of pathogenic and therapeutic significance. *Ann N Y Acad Sci* 1147: 93–104.
<https://doi.org/10.1196/annals.1427.023>
16. *Víctor VM, Espulgues JV, Hernández-Mijares A, Rocha M* (2009) Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis: a potential therapy with mitochondria-targeted antioxidants. *Infectious Disord Drug Targets* 9(4): 376–389.
<https://doi.org/10.2174/187152609788922519>
17. *Maurel C, Dangoumau A, Marouillat S, Brulard C, Chami A, Hergesheimer R, Corcia P, Blasco H, Andres CR, Vourc'h P* (2018) Causative Genes in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Protein Degradation Pathways: a Link to Neurodegeneration. *Mol Neurobiol* 55(8): 6480–6499.
<https://doi.org/10.1007/s12035-017-0856-0>
18. *Rose S, Niyazov DM, Rossignol DA, Goldenthal M, Kahler SG, Frye RE* (2018) Clinical and Molecular Characteristics of Mitochondrial Dysfunction in Autism Spectrum Disorder. *Mol Diagn Ther* 22(5): 571–593.
<https://doi.org/10.1007/s40291-018-0352-x>
19. *Frye RE* (2020) Mitochondrial Dysfunction in Autism Spectrum Disorder: Unique Abnormalities and Targeted Treatments. *Sem Ped Neurol* 35: 100829.
<https://doi.org/10.1016/j.spen.2020.100829>
20. *Roberts RC* (2021) Mitochondrial dysfunction in schizophrenia: With a focus on postmortem studies. *Mitochondrion* 56: 91–101.
<https://doi.org/10.1016/j.mito.2020.11.009>
21. Международная классификация болезней 11-го пересмотра (МКБ-11).
<https://mkb11.online/>
22. МКБ-11 5C53.24 — Синдром Ли
<https://mkb11.online/104842>
23. *Rahman S* (2023) Leigh syndrome. *Handbook Clin Neurol* 194: 43–63.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821751-1.00015-4>
24. 6A6 Биполярное и сходные расстройства.
<https://mkb11.online/105462>
25. *Ashleigh T, Swerdlow RH, Beal MF* (2023) The role of mitochondrial dysfunction in Alzheimer's disease pathogenesis. *Alzheimer's Dement* 19(1): 333–342.
<https://doi.org/10.1002/alz.12683>
26. *Raveau M, Shimohata A, Amano K, Miyamoto H, Yamakawa K* (2018) DYRK1A-haploinsufficiency in mice causes autistic-like features and febrile seizures. *Neurobiol Dis* 110: 180–191.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2017.12.003>
27. RESEARCH MODELS Tg2576. AlzForum Foundation Inc.
<https://www.alzforum.org/research-models/tg2576>
28. *LaFerla FM, Green KN* (2012) Animal models of Alzheimer disease. *Cold Spring Harbor Persp Med* 2(11): a006320.
<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006320>

29. Van Dam D, Vloeberghs E, Abramowski D, Staufenbiel M, De Deyn PP (2005) APP23 mice as a model of Alzheimer's disease: an example of a transgenic approach to modeling a CNS disorder. *CNS Spectrums* 10(3): 207–222.
<https://doi.org/10.1017/s1092852900010051>
30. RESEARCH MODELS APP23. AlzForum Foundation Inc.
<https://www.alzforum.org/research-models/app23>
31. Куликова ОИ, Федорова ТН, Орлова ВС (2019) Моделирование болезни Паркинсона с помощью экзогенных нейротоксинов (обзор литературы). *Токсикол вестн* 2(155): 9–15. [Kulikova OI, Fedorova TN, Orlova VS (2019) Modeling of Parkinson's disease using ekzogen-nih nejrotoksinov (obzor literature). *Toksikol Vestn* 2(155): 9–15. (In Russ)].
<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:182374837>
32. Sörensen L, Ekstrand M, Silva JP, Lindqvist E, Xu B, Rustin P, Olson L, Larsson NG (2001) Late-onset corticohippocampal neurodepletion attributable to catastrophic failure of oxidative phosphorylation in MILON mice. *J Neurosci* 21(20): 8082–8090.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-20-08082.2001>
33. Galter D, Pernold K, Yoshitake T, Lindqvist E, Hoffer B, Kehr J, Larsson NG, Olson L (2010) MitoPark mice mirror the slow progression of key symptoms and L-DOPA response in Parkinson's disease. *Genes Brain Behav* 9(2): 173–181.
<https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2009.00542.x>
34. Innos J, Hickey MA (2021) Using Rotenone to Model Parkinson's Disease in Mice: A Review of the Role of Pharmacokinetics. *Chem Res Toxicol* 34(5): 1223–1239.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00522>
35. Ставровская АВ, Воронков ДН, Ольшанский АС, Гущина АС, Ямщикова НГ (2021) Взаимосвязь локализации повреждений дофаминовой иннервации стриатума и их поведенческих проявлений на 6-гидроксидофамин-индуцированной модели паркинсонизма у крыс. *Анналы клин экспер неврол* 15(2): 42–49. [Stavrovskaya AV, Voronkov DN, Olshansky AS, Gushchina AS, Yamshikova NG (2021) The relationship between the location of a lesion in the striatal dopaminergic innervation and its behavioral manifestation in a 6-hydroxydopamine-induced model of Parkinson's disease in rats. *Ann Clin Experim Neurol* 15(2): 42–49. (In Russ)].
<https://doi.org/10.25692/ACEN.2021.2.6>
36. Scott-McKean JJ, Chang B, Hurd RE, Nusinowitz S, Schmidt C, Davisson MT, Costa AC (2010) The mouse model of Down syndrome Ts65Dn presents visual deficits as assessed by pattern visual evoked potentials. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 51(6): 3300–3308.
<https://doi.org/10.1167/iovs.09-4465>
37. Browne SE, Ferrante RJ, Beal MF (1999) Oxidative stress in Huntington's disease. *Brain Pathol* 9(1): 147–163.
<https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1999.tb00216.x>
38. Grillo AS, Bitto A, Kaerberlein M (2021) The NDUFS4 Knockout Mouse: A Dual Threat Model of Childhood Mitochondrial Disease and Normative Aging. *Methods Mol Biol* 2277: 143–155.
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1270-5_10
39. Ferrari M, Jain IH, Goldberger O, Rezoagli E, Thoonen R, Cheng KH, Sosnovik DE, Scherrer-Crosbie M, Mootha VK, Zapol WM (2017) Hypoxia treatment reverses neurodegenerative disease in a mouse model of Leigh syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114(21): E4241–E4250.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1621511114>
40. Anwar MR, Saldana-Caboverde A, Garcia S, Diaz F (2018) The Organization of Mitochondrial Supercomplexes is Modulated by Oxidative Stress In Vivo in Mouse Models of Mitochondrial Encephalopathy. *Int J Mol Sci* 19(6): 1582.
<https://doi.org/10.3390/ijms19061582>
41. Research models Ts65Dn. AlzForum Foundation Inc.
<https://www.alzforum.org/research-models/ts65dn>
42. Research models APP23 x PS1-R278I. AlzForum Foundation Inc.
<https://www.alzforum.org/research-models/app23-x-ps1-r278i>
43. Ekstrand MI, Galter D (2009) The MitoPark Mouse – an animal model of Parkinson's disease with impaired respiratory chain function in dopamine neurons. *Parkinson Relat Disords* 15 Suppl 3: S185–S188.
[https://doi.org/10.1016/S1353-8020\(09\)70811-9](https://doi.org/10.1016/S1353-8020(09)70811-9)
44. Kolosova NG, Stefanova NA, Korbolina EE, Fursova AZh, Kozhevnikova OS (2014) A genetic model of premature aging and age-related diseases. *Adv Gerontol* 4: 294–298.
<https://doi.org/10.1134/S2079057014040146>
45. Макарова МН, Матичин АА, Матичина АА, Макаров ВГ (2022) Принципы выбора животных для научных исследований. Сообщение 1. Выбор модельных организмов на основании филогенетических связей. *Лаб животные для научн исследований* 2: 58–70. [Makarova MN, Matichin AA, Maticina AA, Makarov VG (2022) Animal choice strategy for research. Report 1:

- animal choice based on phylogenetic relationships. *Lab Animals for Sci* 2: 58–70. (In Russ)].
<https://doi.org/10.29296/2618723X-2022-02-07>
46. *de Abreu MS, Demin KA, Kotova MM, Mirzaei F, Shariff S, Kantawala B, Zakharchenko KV, Kolesnikova TO, Dilbaryan K, Grigoryan A, Yenkovyan KB, Kalueff AV* (2023) Developing Novel Experimental Models of m-TORopathic Epilepsy and Related Neuropathologies: Translational Insights from Zebrafish. *Int J Mol Sci* 24(2): 1530.
<https://doi.org/10.3390/ijms24021530>
 47. *Panula P, Chen YC, Priyadarshini M, Kudo H, Semenova S, Sundvik M, Sallinen V* (2010) The comparative neuroanatomy and neurochemistry of zebrafish CNS systems of relevance to human neuropsychiatric diseases. *Neurobiol Dis* 40(1): 46–57.
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.05.010>
 48. *Калыев АВ* (2022) Принципы моделирования заболеваний мозга и их терапии на зебра-дании (zebrafish). *Обзоры клин фармакол и лекарств терапии* 20(2): 119–122. [*Kalueff AV* (2022) Principles of modeling brain diseases and their therapy based on zebrafish studies. *Rev Clin Pharmacol Drug Therapy* 20(2): 119–122. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17816/RCF202119-122>
 49. *Howe K, Clark MD, Torroja CF, Torrance J, Berthelot C, Muffato M, Collins JE, Humphray S, McLaren K, Matthews L, McLaren S, Sealy I, Caccamo M, Churcher C, Scott C, Barrett JC, Koch R, Rauch GJ, White S, Chow W, Stemple DL* (2013) The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. *Nature* 496(7446): 498–503.
<https://doi.org/10.1038/nature12111>
 50. *Кротова НА, Лакстыгал АМ, Таранов АС, Ильин НП, Бытов МВ, Волгин АД, Амстиславская ТГ, Демин КА, Калыев АВ* (2019) Зебраданио (zebrafish) как новая перспективная модель в трансляционной нейробиологии. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 105: 1417–1435. [*Krotova NA, Lakstygala AM, Taranov AS, Ilyin NP, Bytov MV, Volgin AD, Amstislavskaya TG, Demin KA, Kalueff AV* (2019) Zebrafish as a new promising model in translational neuroscience. *Russ J Physiol* 105: 1417–1435. (In Russ)].
<https://doi.org/10.1134/S0869813919110062>
 51. *Wang J, Cao H* (2021) Zebrafish and Medaka: Important Animal Models for Human Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci* 22(19): 10766.
<https://doi.org/10.3390/ijms221910766>
 52. *Taylor JS, Braasch I, Frickey T, Meyer A, Van de Peer Y* (2003) Genome duplication, a trait shared by 22000 species of ray-finned fish. *Genome Res* 13(3): 382–390.
<https://doi.org/10.1101/gr.640303>
 53. *Fichi G, Naef V, Barca A, Longo G, Fronte B, Verri T, Santorelli FM, Marchese M, Petruzzella V* (2019) Fishing in the Cell Powerhouse: Zebrafish as A Tool for Exploration of Mitochondrial Defects Affecting the Nervous System. *Int J Mol Sci* 20(10): 2409.
<https://doi.org/10.3390/ijms20102409>
 54. *Drerup CM, Herbert AL, Monk KR, Nechiporuk AV* (2017) Regulation of mitochondria-dynactin interaction and mitochondrial retrograde transport in axons. *eLife* 6: e22234.
<https://doi.org/10.7554/eLife.22234>
 55. *Halpern ME, Rhee J, Goll MG, Akitake CM, Parsons M, Leach SD* (2008) Gal4/UAS transgenic tools and their application to zebrafish. *Zebrafish* 5(2): 97–110.
<https://doi.org/10.1089/zeb.2008.0530>
 56. *Mandal A, Pinter K, Drerup CM* (2018) Analyzing Neuronal Mitochondria in vivo Using Fluorescent Reporters in Zebrafish. *Front Cell Dev Biol* 6: 144.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00144>
 57. *Song Y, Selak MA, Watson CT, Coutts C, Scherer PC, Panzer JA, Gibbs S, Scott MO, Willer G, Gregg RG, Ali DW, Bennett MJ, Balice-Gordon RJ* (2009) Mechanisms underlying metabolic and neural defects in zebrafish and human multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD). *PloS One* 4(12): e8329.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0008329>
 58. *Yue P, Yang X, Ning P, Xi X, Yu H, Feng Y, Shao R, Meng X* (2018) A mitochondria-targeted ratiometric two-photon fluorescent probe for detecting intracellular cysteine and homocysteine. *Talanta* 178: 24–30.
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.08.085>
 59. *Artuso L, Romano A, Verri T, Domenichini A, Argenton F, Santorelli FM, Petruzzella V* (2012) Mitochondrial DNA metabolism in early development of zebrafish (*Danio rerio*). *Biochim Biophys Acta* 1817(7): 1002–1011.
<https://doi.org/10.1016/j.bbabo.2012.03.019>
 60. *Zurita Rendón O, Silva Neiva L, Sasarman F, Shoubridge EA* (2014) The arginine methyltransferase NDUFAF7 is essential for complex I assembly and early vertebrate embryogenesis. *Hum Mol Gen* 23(19): 5159–5170.
<https://doi.org/10.1093/hmg/ddu239>

61. Kumar MG, Rowley S, Fulton R, Dinday MT, Baraban SC, Patel M (2016) Altered Glycolysis and Mitochondrial Respiration in a Zebrafish Model of Dravet Syndrome. *eNeuro* 3(2): ENEURO 0008-16.2016.
<https://doi.org/10.1523/ENEURO.0008-16.2016>
62. Flinn LJ, Keatinge M, Bretauid S, Mortiboys H, Matsui H, De Felice E, Woodroof HI, Brown L, McTighe A, Soellner R, Allen CE, Heath PR, Milo M, Muqit MM, Reichert AS, Köster RW, Ingham PW, Bandmann O (2013) TigarB causes mitochondrial dysfunction and neuronal loss in PINK1 deficiency. *Ann Neurol* 74(6): 837–847.
<https://doi.org/10.1002/ana.23999>
63. Ye C, Chen P, Xu B, Jin Y, Pan Y, Wu T, Du Y, Mao J, Wu R (2023) Abnormal expression of fission and fusion genes and the morphology of mitochondria in eutopic and ectopic endometrium. *Eur J Med Res* 28(1): 209.
<https://doi.org/10.1186/s40001-023-01180-w>
64. Vettori A, Bergamin G, Moro E, Vazza G, Polo G, Tiso N, Argenton F, Mostacciolo ML (2011) Developmental defects and neuromuscular alterations due to mitofusin 2 gene (MFN2) silencing in zebrafish: a new model for Charcot-Marie-Tooth type 2A neuropathy. *Neuromusc Disords* 21(1): 58–67.
<https://doi.org/10.1016/j.nmd.2010.09.002>
65. Campbell PD, Shen K, Sapio MR, Glenn TD, Talbot WS, Marlow FL (2014) Unique function of Kinesin Kif5A in localization of mitochondria in axons. *J Neurosci* 34(44): 14717–14732.
<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2770-14.2014>
66. Kasprzyk-Pawelec A, Tan M, Phua YL, Rahhal R, McIntosh A, Fernandez H, Girgis M, Cheema A, Jiang L, Kroemer LF, Popratiloff A, Clarkson C, Kirmsa BM, Pearson GW, Glasgow E, Albanese C, Vockley J, Avantiaggiati ML (2023) Loss of the mitochondrial citrate carrier, Slc25a1/CIC disrupts embryogenesis via 2-Hydroxyglutarate. *bioRxiv* 2023.07.18. 549409.
<https://doi.org/10.1101/2023.07.18.549409>
67. Chaouch A, Porcelli V, Cox D, Edvardson S, Scarcia P, De Grassi A, Pierri CL, Cossins J, Laval SH, Grif-fin H, Müller JS, Evangelista T, Töpf A, Abicht A, Huebner A, von der Hagen M, Bushby K, Straub V, Horvath R, Elpeleg O, Lochmüller H (2014) Mutations in the Mitochondrial Citrate Carrier SLC25A1 are Associated with Impaired Neuromuscular Transmission. *J Neuromusc Dis* 1(1): 75–90.
<https://doi.org/10.3233/JND-140021>
68. Yahalom G, Anikster Y, Huna-Baron R, Hoffmann C, Blumkin L, Lev D, Tsabari R, Nitsan Z, Lerman SF, Ben-Zeev B, Pode-Shakked B, Sofer S, Schweiger A, Lerman-Sagie T, Hassin-Baer S (2014) Costeff syndrome: clinical features and natural history. *J Neurol* 261(12): 2275–2282.
<https://doi.org/10.1007/s00415-014-7481-x>
69. Pei W, Kratz LE, Bernardini I, Sood R, Yokogawa T, Dorward H, Ciccone C, Kelley RI, Anikster Y, Burgess HA, Huizing M, Feldman B (2010) A model of Costeff Syndrome reveals metabolic and protective functions of mitochondrial OPA3. *Development* 137(15): 2587–2596.
<https://doi.org/10.1242/dev.043745>
70. Козжанова ТВ (2023) Возможности и достижения использования массового параллельного секвенирования в диагностике наследственных заболеваний с поражением нервной системы. Эпилепсия и пароксизмальные состояния 15(1): 44–52. [Kozhanova TV (2023) Opportunities and achievements of using massive parallel sequencing in the diagnosis of neurodevelopmental diseases. *Epilepsy and Paroxysmal Conditions* 15(1): 44–52. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17749/2077-8333/epi.par.con.2023.127>
71. Chen J, Guan L, Zou M, He S, Li D, Chi W (2020) Specific cyprinid HIF isoforms contribute to cellular mitochondrial regulation. *Sci Rep* 10(1): 17246.
<https://doi.org/10.1038/s41598-020-74210-w>
72. Di Donato S (2009) Multisystem manifestations of mitochondrial disorders. *J Neurol* 256(5): 693–710.
<https://doi.org/10.1007/s00415-009-5028-3>
73. Schmidt R, Strähle U, Scholpp S (2013) Neurogenesis in zebrafish – from embryo to adult. *Neural Dev* 8: 3.
<https://doi.org/10.1186/1749-8104-8-3>
74. Jain IH, Zazzeron L, Goli R, Alexa K, Schatzman-Bone S, Dhillion H, Goldberger O, Peng J, Shalem O, Sanjana NE, Zhang F, Goessling W, Zapol WM, Mootha VK (2016) Hypoxia as a therapy for mitochondrial disease. *Science* 352(6281): 54–61.
<https://doi.org/10.1126/science.aad9642>
75. Matsui H, Ito J, Matsui N, Uechi T, Onodera O, Kakita A (2021) Cytosolic dsDNA of mitochondrial origin induces cytotoxicity and neurodegeneration in cellular and zebrafish models of Parkinson's disease. *Nat Commun* 12(1): 3101.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-23452-x>

76. Hu T, Dong Y, He C, Zhao M, He Q (2020) The Gut Microbiota and Oxidative Stress in Autism Spectrum Disorders (ASD). *Oxid Med Cell Longev* 2020: 8396708.
<https://doi.org/10.1155/2020/8396708>
77. Armstrong R (2019) Risk factors for Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol* 57(2): 87–105.
<https://doi.org/10.5114/fn.2019.85929>
78. Gevezova M, Sarafian V, Anderson G, Maes M (2020) Inflammation and Mitochondrial Dysfunction in Autism Spectrum Disorder. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 19(5): 320–333.
<https://doi.org/10.2174/1871527319666200628015039>

Experimental Models of Mitochondrial Dysfunction Disorders in the Pathogenesis of CNS Diseases on Zebrafish

L. V. Yushko^a, M. M. Kotova^a, T. V. Vyunova^b, and A. V. Kalueff^{a, c, d, e, *}

^a*Division of Neurobiology, Sirius University of Science and Technology, Federal Territory Sirius, Russia*

^b*Life Improvement by Future Technologies Center “LIFT”, Moscow, Russia*

^c*Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia*

^d*Almazov National Medical Research Center, Ministry of Healthcare of Russian Federation, St. Petersburg, Russia*

^e*Institute of Translational Biomedicine, St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia*

**e-mail: avkalueff@gmail.com*

Mitochondrial dysfunctions are associated with the pathogenesis of various brain disorders, including Alzheimer's, Parkinson's, Huntington's, amyotrophic lateral sclerosis, Leigh syndrome and autism spectrum disorder. For the study of mitochondrial dysfunction and the development and testing of new therapeutic strategies, in vivo studies with zebrafish (*Danio rerio*) are of particular interest, due to their biological characteristics, practicality in laboratory maintenance, and high throughput. Here, we discuss genetic and pharmacological models of common mitochondrial dysfunctions and related neurological disorders in rodents and zebrafish, focusing of the growing utility of these fish in modeling mitochondrial pathogenesis of various CNS diseases.

Keywords: mitochondria, mitochondrial dysfunction, CNS diseases, model organisms, zebrafish