

## **Коррекция провоспалительной поляризации микроглии в стареющем мозге крыс при курсовом применении этилметилгидроксипиридина сукцината**

**Терехина О.Л., Кирова Ю.И.**

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии».  
125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

## **Correction of pro-inflammatory polarization of microglia in the aging brain of rats during the course application of ethylmethylhydroxypyridine succinate**

**Terekhina O.L., Kirova Yu.I.**

Institute of General Pathology and Pathophysiology,  
Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

Старение мозга сопровождается снижением трофического, анаболического, репаративного потенциала, что проявляется комплексом возраст-ассоциированных изменений: (1) подавление митохондрио-, ангио-, синапто-, нейрогенеза; (2) сокращение количества/длины дендритов и аксонов; (3) снижение когнитивных, сенсорных и моторных функций. Одной из ключевых причин патологической прогрессии старческих неврологических нарушений является устойчивая провоспалительная/цитотоксическая поляризация микроглии, избыточная микроглиальная генерация активных форм кислорода, провоспалительных цитокинов и хемокинов, а также сниженная секреция иммуносупрессорных, ростовых и нейротрофических факторов. Типичными чертами нейровоспаления стареющего мозга являются хроническое, асептическое, умеренное течение без полноценной стадии разрешения и восстановления тканевого гомеостаза [1]. Одним из наиболее перспективных подходов в коррекции провоспалительной поляризации стареющей микроглии может быть применение субстанций проразрешающего действия, способных не только блокировать воспалительный сигнальный каскад подобно широко применяемым противовоспалительным препаратам, но и стимулировать метаболический переход микроглии к механизмам аэробной энергопродукции и митохондриогенеза, что составляет основу формирования противовоспалительного/нейрорепаративного фенотипа микроглии с высокой фагоцитарной, миграционной и трофической активностью [2]. Противовоспалительные и проразрешающие свойства, предположительно, присущи митохондриальному метаболиту, интермедиату цикла трикарбоновых кислот янтарной кислоте (сукцинат), которая не только является энергетическим субстратом, но и сигнальной мо-

лекулой, реализующей широкий спектр противогипоксических эффектов через специфический сукцинатный рецептор SUCNR1. Сукцинат/SUCNR1-сигнализация стимулирует ангиогенез, эритропоэз, повышение артериального давления и стимуляцию сердечной деятельности. SUCNR1 является Gq-/Gi-сопряженным рецептором, экспонирован на клеточной мембране, служит сенсором внеклеточного сукцината и в условиях физиологического покоя экспрессируется клетками организма в малых/следовых количествах. Значительная конститутивная экспрессия SUCNR1 была обнаружена в разных типах иммунцитов, и прежде всего макрофагах, что позволило предполагать вовлеченность сукцинатной сигнализации в механизмы развития иммунного ответа, воспаления и поддержания тканевого гомеостаза. В 2021 году были опубликованы данные, демонстрирующие сукцинат-зависимую индукцию противовоспалительной гиперполяризации макрофагов через Gq-опосредованный внутриклеточный сигнальный каскад [3].

**Цель** проведенного исследования заключалась в выявлении потенциальной способности янтарной кислоты индуцировать противовоспалительную поляризацию микроглии (резидентные макрофаги ЦНС) в стареющем мозге.

**Материалы и методы.** Работа была выполнена на самцах белых беспородных крыс в возрасте 3 (молодые), 6 (средневозрастные) и 18 (старые) месяцев. Животных содержали в стандартных условиях вивария ФГБНУ «НИИОПП». Протоколы экспериментов были утверждены этическим комитетом ФГБНУ «НИИОПП». Этилметилгидроксипиридина сукцинат (Мексидол, ООО «НПК ФАРМАСОФТ»; 100 мг/кг, в/б, ежедневно, 14 дней) был использован в качестве формы сукцината, преодолевающей гематоэнцефалический

барьер. В образцах коры головного мозга (КГМ) методом иммуноблоттинга выявляли поверхностные маркеры про- (M1) и противовоспалительного (M2) фенотипа микроглии (CD86 и CD206, соответственно), цитоплазматический микроглиальный маркер Iba1, а также провоспалительные цитокины IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$  (экспрессируются M1-микроглией), иммуносупрессорный цитокин TGF- $\beta$ 1 и нейротрофин BDNF (экспрессируются M2-микроглией). Иммуногистохимическим окрашиванием выявляли Iba1-экспрессирующие микроглиоциты, оценивали их количество и морфологические особенности в префронтальной коре (ПФК) и гиппокампе молодых и старых крыс. В КГМ методом вестерн-блот-анализа определяли уровень экспрессии сукцинатного рецептора SUCNR1, а также белков-маркеров церебрального митохондриогенеза (каталитические субъединицы дыхательных ферментов (NDUFB2, SDHA, *cyt b*, COX2) и АТФ-синтазы (АТФ5А), транскрипционный коактиватор PGC-1 $\alpha$ ), активация которого свидетельствует об усилении молекулярных механизмов разрешения воспаления и восстановления тканевого гомеостаза.

**Результаты.** Экспрессия поверхностных маркеров про- (CD86) и особенно противовоспалительной микроглии (CD206) была снижена у старых крыс на 20% и 55% соответственно в сравнении с молодыми животными, что может быть связано с развитием дистрофических изменений стареющей микроглии, уменьшением размеров клеток, количества отростков, их длины и разветвленности. Содержание цитоплазматического микроглиального маркера Iba1, а также провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  увеличивалось в КГМ старых крыс на 20%, в то время как содержание иммуносупрессорного цитокина TGF- $\beta$ 1 и нейротрофина BDNF снижалось на 30% и 40% соответственно. Морфологические признаки провоспалительной поляризации (короткие, слаборазветвленные, малочисленные отростки) отмечались для микроглии ПФК и СА1-поля гиппокампа старых крыс, также, как увеличение количества микроглиальных клеток в сравнении с молодыми животными. Уровни экспрессии маркеров митохондриогенеза были снижены в КГМ старых крыс, причем наиболее подавлена была экспрессия главного координатора механизмов энергетического гомеостаза транскрипционного коактиватора PGC1 $\alpha$  (на 40% в сравнении с молодыми крысами). В целом данные свидетельствуют о формировании провоспалительного состояния микроглии и снижении пластического потенциала стареющего мозга. 14-днев-

ный курс мексидола вызывал слабое снижение уровня экспрессии CD86 у старых крыс и значимое увеличение на 45% содержания CD206 до его уровня у 6-месячных крыс. Увеличение экспрессии фагоцитарного маннозного рецептора CD206 происходило сопряженно с увеличением содержания в КГМ старых крыс противовоспалительного цитокина TGF- $\beta$ 1 и нейротрофина BDNF (на 60% и 35% соответственно). Курс мексидола вызывал в ПФК и СА1-поле гиппокампа старых крыс увеличение количества, длины и разветвленности отростков у Iba1-положительных микроглиоцитов, а также снижение количества микроглиальных клеток. Введение мексидола индуцировало в КГМ старых крыс экспрессию белков-маркеров биогенеза митохондрий, что происходило сопряженно с увеличением содержания SUCNR1, экспрессируемого микроглией. Полученные данные свидетельствуют о вовлечении сукцинат/SUCNR1-сигнализации в противовоспалительную поляризацию микроглии и активацию микроглиально-зависимых регенераторно-трофических процессов в стареющем мозге [4, 5].

**Заключение.** Полученные данные раскрывают новый SUCNR1-опосредованный механизм нейропротекторной активности мексидола и развивают представления о церебральных эффектах сукцинат/SUCNR1-сигнализации, состоящих в ограничении воспалительной реакции и усилении репаративного потенциала в стареющем мозге.

## Список литературы

1. Castelli V., Benedetti E., Antonosante A., Catanesi M., Pitari G., Ippoliti R., Cimini A., d'Angelo M. Neuronal Cells Rearrangement During Aging and Neurodegenerative Disease: Metabolism, Oxidative Stress and Organelles Dynamic. *Front. Mol. Neurosci.* 2019; 12: 132. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00132
2. Neves J., Sousa-Victor P. Regulation of inflammation as an anti-aging intervention. *FEBS J.* 2020; 287(1): 43–52. DOI: 10.1111/febs.15061
3. Trauelsen M., Hiron T.K., Lin D., Petersen J.E., Breton B., Husted A.S., Hjorth S.A., Inoue A., Frimurer T.M., Bouvier M., O'Callaghan C.A., Schwartz T.W. Extracellular succinate hyperpolarizes M2 macrophages through SUCNR1/GPR91-mediated Gq signaling. *Cell. Rep.* 2021; 35(11): 109246. DOI: 10.1016/j.celrep.2021.109246
4. Kirova Y.I., Shakova F.M., Voronina T.A. Ethylmethylhydroxypyridine succinate induces anti-inflammatory polarization of microglia in the brain of aging rat. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series A: Membrane and Cell Biology.* 2021; 15(4): 356–364. DOI: 10.1134/S1990747821060040
5. Кирова Ю.И., Терехина О.Л., Шакова Ф.М. Морфофункциональные особенности астроцитов и микроглии в мозге стареющих крыс при курсовом применении этилметилгидроксипиридина сукцината. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2022; 66(1): 4–16. DOI: 10.25557/0031-2991.2022.01.4-16