

УДК: 611.813:616-018:616-002

Реактивная микроглия при внутрибрюшинном введении липополисахарида

Венедиктов А.А., Кузьмин Е.А., Покидова К.С., Пьявченко Г.А., Кузнецов С.Л.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет) 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

Целью исследования было изучить экспрессию маркера активированных макрофагов Iba1 в цингулярной коре больших полушарий головного мозга у мышей в условиях введения эшерихиозного липополисахарида (ЛПС).

Материалы и методы. Работа выполнена на трёхмесячных самках мышей линии C57Bl/6. Животным 1-й группы вводили физиологический раствор, 2-й группы – 0,5 мг/кг эшерихиозного липополисахарида, 3-й группы – 2 мг/кг эшерихиозного липополисахарида внутрибрюшинно на протяжении 4 дней 1 раз в сутки. Мышей выводили из эксперимента, изготавливали срезы головного мозга толщиной 5 мкм с последующим окрашиванием при помощи антител к Iba1, выполняли морфометрию и статистическую обработку.

Результаты. Среднее значение количества участков с положительной реакцией к Iba1 в 3-й группе статистически достоверно больше такового для 1-й группы ($p < 0,05$).

Заключение. Введение ЛПС мышам в дозе 2 мг/кг/сутки внутрибрюшинно на протяжении 4 дней приводит к повышению экспрессии Iba1 в цингулярной коре больших полушарий головного мозга. Требуется дальнейшее изучение данного режима введения ЛПС.

Ключевые слова: нейровоспаление; липополисахарид; микроглия; Iba1.

Для цитирования: Венедиктов А.А., Кузьмин Е.А., Покидова К.С., Пьявченко Г.А., Кузнецов С.Л. Реактивная микроглия при внутрибрюшинном введении липополисахарида. *Патогенез*. 2024; 22(2): 48-50.

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.48-50

Для корреспонденции: Венедиктов Артем Андреевич, venediktov_a_a@staff.sechenov.ru

Финансирование. Исследование не имеет спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 01.06.2024.

Reactive microglia in intraperitoneal administration of lipopolysaccharide

Venediktov A.A., Kuzmin E.A., Pokidova K.S., Pivchenko G.A., Kuznetsov S.L.

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Trubetskaya Str. 8, Bldg. 2, Moscow 119991, Russian Federation

The aim of study was to reveal the expression of the marker of activated Iba1 macrophages in the cingulate cerebral cortex of mice when escherichial lipopolysaccharide (LPS) given.

Materials and methods. The work included three-month-old female C57Bl/6 mice. Animals of Group 1 got intraperitoneal saline solution once a day for 4 days, Group 2 – 0.5 mg/kg/day of *E. coli* LPS, and Group 3 – 2 mg/kg of the substance. Mice sacrificed, brain sections of 5 μ m made, and Iba1-antibodies' staining performed with consecutive morphometrics and statistics.

Results. The mean number of sites with a positive reaction to Iba1 in Group 3 is significantly higher than that for Group 1, $p < 0.05$.

Conclusion. LPS i. p. at 2 mg/kg/day for 4 days leads to an increase in Iba1 expression in the cingulate cerebral cortex of mice. Further study of this mode of LPS administration is required.

Key words: neuroinflammation; lipopolysaccharide; microglia; Iba1.

For citation: Venediktov A.A., Kuzmin E.A., Pokidova K.S., Pivchenko G.A., Kuznetsov S.L. [Reactive microglia in intraperitoneal lipopolysaccharide]. *Patogenez (Pathogenesis)*. 2024; 22(2): 48-50. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.48-50

For correspondence: Venediktov Artem Andreevich, venediktov_a_a@staff.sechenov.ru

Funding. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 01.06.2024.

Введение

На протяжении последних десятилетий нарастает актуальность изучения постепенного, развивающегося с возрастом повреждения коры больших полушарий головного мозга, для лучшего понимания его структуры и функции. Такое повреждение почти всегда имеет

внешний стимул, и потому развивается только при прохождении повреждающим агентом гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [1].

Одним из значимых элементов в системе реагирования на внешние факторы, миновавшие ГЭБ, являются

ся макрофаги микроглии. Следовательно, оценка экспрессии ими маркёров клеточной активации может позволить подбирать адекватные режимы моделирования развивающегося с возрастом повреждения.

В этом контексте, целью нашей работы было изучение количественных изменений экспрессии Iba1 в цингулярной коре больших полушарий головного мозга у мышей при введении эшерихиозного липополисахарида.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования были трёхмесячные самки мышей C57Bl/6 ($n = 15$). Животных содержали в виварии с поддержанием адекватных температуры, влажности, световой нагрузки и хендлинга, круглосуточным доступом к воде и пище. После карантина и осмотра ветврачом их рандомизировали на три группы по пять животных.

Животным 1-й группы вводили физиологический раствор, 2-й группы – 0,5 мг/кг эшерихиозного ЛПС, 3-й группы – 2 мг/кг ЛПС внутривентриально 1 раз в сутки на протяжении 4 дней. Мышей выводили из эксперимента, изготавливали парафиновые корональные срезы головного мозга толщиной 5 мкм с иммуногистохимическим окрашиванием при помощи антител к Iba1 (поликлональные антитела Anti-Iba1, артикул ER1802-20, партия HL0213; Nuabio, КНР).

Оценивали морфологию цингулярной коры. Поскольку Iba1 в нервной ткани продуцируется в основ-

ном макрофагами, перешедшими к активному фагоцитозу (реактивная микроглия) [2] и занимает неравномерно отдельные участки цитоплазмы, для количественной оценки выполняли гистологическое исследование препаратов, фотографирование соответствующих цели исследования участков коры (Axio Imager.A1 с камерой AxioCam 305 color и программным обеспечением Zen 3.3; Zeiss, Германия) и морфометрию с подсчётом количества участков с положительной реакцией на Iba1 при помощи программного обеспечения QuPath (версия 0.5.0, Королевский Университет Белфаста, Белфаст, Великобритания и Северная Ирландия).

Статистическую обработку проводили с использованием программного решения OriginPro (Origin, США) с оценкой нормальности распределения по Шапиро-Уилку и однофакторным дисперсионным анализом с поправкой Тьюки.

Исследование одобрено к выполнению Локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (протокол № 01-22 от 20.01.2022).

Результаты исследования

У мышей 1-й группы в цингулярной коре больших полушарий головного мозга выявлено в среднем $159,8 \pm 14,11$ участков цитоплазмы с экспрессией Iba1, у 2-й группы – $313,9 \pm 20,37$ и у 3-й группы – $431,6 \pm 92,73$ участков соответственно (рис. 1).

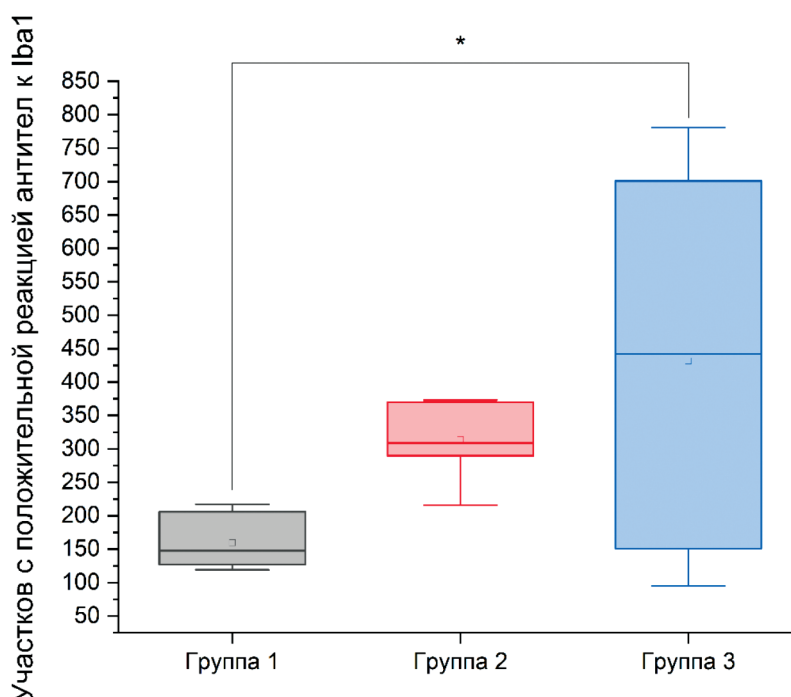


Рис. 1. Участки с положительной реакцией антител к Iba1 в цингулярной коре головного мозга мышей после введения ЛПС. Группа 1 – физиологический раствор, Группа 2 – 0,5 мг/кг/сутки, Группа 3 – 2 мг/кг/сутки.

Исследование не выявило количественной разницы в экспрессии Iba1 для 2-й группы (с введением 0,5 мг/кг ЛПС в сутки) по сравнению с контрольной, 1-й группой (с введением физиологического раствора). В то же время, у мышей 3-й группы количество участков с экспрессией Iba1 статистически достоверно повышается по сравнению с 1-й группой.

Следовательно, реакция микроглии в цингулярной коре на такой проникающий через гематоэнцефалический барьер раздражитель, как ЛПС, наглядно проявляется уже при общей дозе 8 мг/кг массы тела животного, распределённой на 4 дня введения.

Заключение

Введение ЛПС мышам в дозе 2 мг/кг/сутки внутрибрюшинно на протяжении 4 дней приводит к повышению экспрессии Iba1 в цингулярной коре больших полушарий головного мозга. Актуально углубленное изучение данного режима введения ЛПС с точки

зрения всестороннего изучения морфологических изменений в нервной ткани.

Авторский вклад

Венедиктов А.А., Пьявченко Г.А. и Кузнецов С.Л. планирование исследования. Венедиктов А.А., Кузьмин Е.А. и Покидова К.С. провели эксперимент и обработали результаты. Венедиктов А.А., Пьявченко Г.А. и Кузнецов С.Л. написали текст работы. Все авторы одобрили текст публикации.

Список литературы

1. Stephenson J., Nutma E., van der Valk P., Amor S. Inflammation in CNS neurodegenerative diseases. *Immunology*. 2018; 154(2): 204–219. DOI: 10.1111/imm.12922
2. Okada Y., Hosoi N., Matsuzaki Y., Fukai Y., Hiraga A., Nakai J., Nitta K., Shinohara Y., Konno A., Hirai H. Development of microglia-targeting adeno-associated viral vectors as tools to study microglial behavior in vivo. *Commun. Biol.* 2022; 5(1): 1224. DOI: 10.1038/s42003-022-04200-3

Сведения об авторах:

Венедиктов Артем Андреевич — аспирант, ассистент кафедры анатомии и гистологии человека Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); <https://orcid.org/0000-0002-5604-0461>

Кузьмин Егор Александрович — стажёр-исследователь кафедры анатомии и гистологии человека Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); <https://orcid.org/0000-0003-4098-1125>

Покидова Ксения Сергеевна — студентка Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); <https://orcid.org/0009-0000-0323-7669>

Пьявченко Геннадий Александрович — кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии и гистологии человека Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); <https://orcid.org/0000-0001-7782-3468>

Кузнецов Сергей Львович — доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор кафедры анатомии и гистологии человека Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет); <https://orcid.org/0000-0002-0704-1660>