Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова
2024, т. 124, №9, с. 115–121
https://doi.org/10.17116/jnevro2024124091115

S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry
2024, vol. 124, no. 9, pp. 115–121
https://doi.org/10.17116/jnevro2024124091115

Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на параметры хронического нейровоспаления и пластических процессов в мозге старых крыс при курсовом введении дексаметазона

© О.Л. ТЕРЕХИНА, Ю.И. КИРОВА

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Москва, Россия

Резюме

Цель исследования. Оценка модулирующего влияния сукцинат/SUCNR1-сигнализации на негеномные иммуносупрессивные и генно-опосредованные воспалительно-дегенеративные эффекты активации глюкокортикоидных рецепторов (ГР) в коре головного мозга (КГМ) старых крыс.

Материал и методы. Методом вестерн-блот-анализа оценивали уровень экспрессии провоспалительных (TNF-α, IL-1β) и противовоспалительных (IL-10, TGF-β1) цитокинов, маркеров митохондриогенеза (PGC-1α, NDUFV2, SDHA, cyt c1, COX2, ATP5A), маркера ангиогенеза VEGF, нейротрофина BDNF, ГР, сукцинатного рецептора SUCNR1 в КГМ 18-месячных крыс при изолированном введении высокоспецифичного лиганда ГР дексаметазона (1 мг/кг, в/б, ежедневно, 10 дней) и его комбинированном введении с сукцинатсодержащим препаратом Мексидол (100 мг/кг, в/б, ежедневно, 10 дней).

Результаты. Дексаметазон вызывал снижение содержания всех определяемых показателей в КГМ крыс, включая IL-10, TGF-β1, PGC-1α, VEGF, BDNF, которое прогрессировало к 10-м суткам, составив 40—60% от исходного уровня, что согласуется с данными литературы о трансрепрессии со стороны ГР ключевых провоспалительных (NFkB, AP1, STAT1), противовоспалительных (PPARγ, ERRα), проанаболических факторов транскрипции (эстрогеновые, андрогеновые рецепторы). Введение Мексидола ежедневно через 1 ч после инъекции дексаметазона не повлияло на дексаметазон-индуцированную супрессию провоспалительных цитокинов, но увеличило уровни экспрессии противовоспалительных цитокинов, белков-маркеров митохондрио-, ангио-, синаптогенеза.

Заключение. Результаты исследования впервые продемонстрировали перспективность и патогенетическую обоснованность комбинированного применения дексаметазона и Мексидола у старых крыс с целью минимизировать активность ГК, направленную на подавление проанаболических программ и механизмов разрешения воспаления.

Ключевые слова: *старение, крысы, кора головного мозга, дексаметазон, Мексидол, этилметилгидроксипиридина сукцинат, провоспалительные цитокины, TNF-α, IL-1β, противовоспалительные цитокины, IL-10, TGF-β1, белки-маркеры митохондриогенеза, PGC-1α, NDUFV2, SDHA, cyt c1, COX2, ATP5A, VEGF, BDNF.*

Информация об авторах:
Терехина О.Л. — https://orcid.org/0000-0001-5128-1912
Кирова Ю.И. — https://orcid.org/0000-0002-2436-3661
Автор, ответственный за переписку: Кирова Ю.И. — e-mail: bioenerg@mail.ru

Как цитировать:
Терехина О.Л., Кирова Ю.И. Влияние этилметилгидроксипиридина сукцината на параметры хронического нейровоспаления и пластических процессов в мозге старых крыс при курсовом введении дексаметазона. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2024;124(9):115—121. https://doi.org/10.17116/jnevro2024124091115

The effect of ethylmethylhydroxypyridine succinate on the parameters of chronic neuroinflammation and plastic processes in the brain of old rats during course of dexamethasone administration

© O.L. TEREKHINA, YU.I. KIROVA

Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

Abstract

Objective. To study was to evaluate the potential modulatory impact of succinate/SUCNR1 signaling on the non-genomic immunosuppressive and gene-mediated inflammatory-degenerative effects of glucocorticoid receptor (GR) activation in the cerebral cortex (CC) of aging rats.

Material and methods. Using Western blot analysis, we assessed the expression level of pro-inflammatory (TNF-α, IL-1β), anti-inflammatory cytokines (IL-10, TGF-β1), mitochondriogenesis markers (PGC-1α, NDUFV2, SDHA, cyt c1, COX2, ATP5A), angiogenesis marker VEGF, neurotrophin BDNF, GR, succinate receptor SUCNR1 in the CC of 18-month-old rats with isolated administration of the highly specific GR ligand dexamethasone (1 mg/kg, i.p., daily, 10 days) and its combined administration with the succinate-containing drug Mexidol (100 mg/kg, i.p., daily, 10 days).

Results. Dexamethasone caused a decrease in the content of all detectable parameters in the CC of 18-month-old rats, including anti-inflammatory IL-10, TGF-β1, PGC-1α, VEGF, BDNF, which progressed by 10 days, amounting to 40—60%, which is con-

sistent with the literature data on transrepression by GR of key pro-inflammatory (NFkB, AP1, STAT1), anti-inflammatory (PPARγ, ERRα), pro-anabolic transcription factors (estrogen, androgen receptors). The administration of Mexidol daily an hour after the injection of dexamethasone did not affect the dexamethasone-induced suppression of pro-inflammatory cytokines, but increased the expression levels of anti-inflammatory cytokines, protein markers of mitochondrio-, angio- and synaptogenesis.
Conclusion. The study demonstrates for the first time the prospect and pathogenetic foundation of the combined use of dexamethasone and Mexidol in an aging body in order to minimize the activity of GC aimed at suppressing pro-anabolic programs and mechanisms for resolving inflammation.

Keywords: *aging, rats, cerebral cortex, dexamethasone, Mexidol, ethylmethylhydroxypyridine succinate, proinflammatory cytokines, TNF-α, IL-1β, anti-inflammatory cytokines, IL-10, TGF-β1, mitochondriogenesis marker proteins, PGC-1α, NDUFV2, SDHA, cyt c1, COX2, ATP5A, VEGF, BDNF.*

Information about the authors:
Terekhina O.L. — https://orcid.org/0000-0001-5128-1912
Kirova Yu.I. — https://orcid.org/0000-0002-2436-3661
Corresponding author: Kirova Yu.I. — e-mail: bioenerg@mail.ru

To cite this article:
Terekhina OL, Kirova YuI. The effect of ethylmethylhydroxypyridine succinate on the parameters of chronic neuroinflammation and plastic processes in the brain of old rats during course of dexamethasone administration. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2024;124(9):115–121. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/jnevro2024124091115

Представления о старении как неуклонно прогрессирующем воспалительно-дегенеративном процессе были сформированы в начале 2000-х гг., однако способы его коррекции остаются недостаточно разработанными и неэффективными. Системное воспаление в пожилом и старческом возрасте слабо или умеренно выражено, развивается в отсутствие очевидных триггеров (очаги инфекционной инвазии, повреждение тканей), связано с устойчивой провоспалительной активацией макрофагов, провоцирует развитие возраст-ассоциированных сердечно-сосудистых, эндокринных, костно-мышечных, онкологических заболеваний, когнитивных и психоэмоциональных расстройств [1].

Определяющую роль в развитии воспалительно-дегенеративных изменений при старении играет хроническая избыточная кортизоловая активация, вызванная в свою очередь возрастной гиперактивацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (ГГН) системы [2]. Катаболические/антианаболические эффекты глюкокортикостероидов (ГКС), опосредованные ГКС-рецепторами (ГР, NR3C1; лигандзависимые факторы транскрипции), сводятся к торможению синтеза белка и угнетению пластических процессов (митохондрио- и ангиогенез), активации протеолиза, липолиза и апоптоза, что имеет не только атрофогенные, но и прогипоксические последствия [3, 4]. ГКС-зависимое снижение плотности микрососудистой сети во всех тканях стареющего организма и ГКС-индуцированная вазоконстрикция вызывают устойчивую гипоксическую активацию гипоталамуса, повышенную реактивность ГГН оси и снижение ее чувствительности к отрицательной регуляции ГК [2, 5]. Продолжительная и чрезмерная ГКС/ГР активация вызывает подавление гипоталамо-гипофизарно-гонадной, гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной осей, секреции и сигнальных путей инсулина, что предопределяет развитие асептического воспаления, поскольку половые, тиреоидные гормоны и инсулин являются не только ключевыми регуляторами пластических процессов, индуцируют ангиогенез и биогенез митохондрий, но и контролируют противовоспалительную поляризацию иммуноцитов [6—10].

Иммуносупрессивные эффекты ГКС, обусловившие их широкое применение в коррекции воспаления, аутоиммунных и гематоонкологических заболеваний, не являются генно-опосредованными, основаны на ДНК-независимом белок-белковом взаимодействии ГР с провоспалительными факторами транскрипции, такими как NF-kB, AP1, STAT1 (непрямая трансрепрессия) [11]. Обусловленное транскрипционной активностью ГР сопряженное подавление анаболических/пластических программ препятствует полноценной противовоспалительной поляризации макрофагов, формируя дистрофический фенотип с ослабленным митохондриальным окислением и сниженной секрецией противовоспалительных и ростовых факторов, несостоятельный в реализации разрешения воспаления [12]. Более того, в условиях продолжительной избыточной ГКС-стимуляции снижается плотность микрососудистой сети во всех органах и тканях, что усугубляет роль гипоксии как триггера провоспалительной поляризации макрофагов и асептического воспаления [4, 13]. Таким образом, система противодействия атрофогенным и прогипоксическим генно-опосредованным эффектам ГКС должна совмещать свойства активатора противогипоксических механизмов (ангиогенный, митохондриогенный стимул), микрососудистой вазодилатации, противовоспалительной поляризации макрофагов, анаболических сигнальных путей.

Открытие в 2004 г. сукцинатного рецептора SUCNR1/GPR91 позволило объяснить плейотропные противогипоксические эффекты янтарной кислоты (сукцинат), связанные не только с поддержанием митохондриального окисления и гликолиза в условиях гипоксии, но и с SUCNR1-опосредованной индукцией ангиогенеза, эритропоэза, микрососудистой вазодилатации [14, 15]. В 2021 г. была продемонстрирована сукцинат/SUCNR1-зависимая индукция противовоспалительной гиперполяризации макрофагов, а миелоспецифическое выключение SUCNR1 оказалось связано с усилением воспаления [16, 17]. Сукцинат/SUCNR1-сигнализация индуцирует синтез белка, биогенез митохондрий, рост аксонов [18, 19]. Ранее нами было показано, что системная стимуляция сукцинатной сигнализации у старых крыс вызывала обращение фенотипа стареющей дистрофически измененной микроглии в префронтальной коре и поле CA1 гиппокампа в раз-

ветвленный (гомеостатический) фенотип, определяемый у молодых и взрослых животных, что было ассоциировано с увеличением уровня экспрессии противовоспалительных цитокинов, маркеров митохондрио-, ангио-, синаптогенеза [20—22]. В условиях хронического иммобилизационного стресса стимуляция сукцинат/SUCNR1-сигнализации ограничивала развитие стресс-индуцированного нейровоспаления в коре головного мозга (КГМ) старых крыс [23].

Существует необходимость разработки мер коррекции метаболических и функциональных ГКС-индуцированных нарушений в стареющем организме с ослабленными механизмами антикортизоловой защиты.

Цель исследования — оценка модулирующего влияния сукцинат/SUCNR1-сигнализации на негеномные иммуносупрессивные и генно-опосредованные воспалительно-дегенеративные эффекты активации ГР в КГМ старых крыс.

Материал и методы

Исследование было выполнено на самцах беспородных белых крыс в возрасте 18 мес (n=96), выращенных в стандартных условиях вивария ФГБНУ «НИИОПП» при естественной смене суточной освещенности, свободном доступе к пище и воде. Эксперименты проводили в соответствии с Национальным стандартом РФ ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Протокол эксперимента был одобрен локальным Этическим комитетом ФГБНУ НИИОПП.

Синтетический ГКС дексаметазон (ОАО НПК «ЭСКОМ», Россия), высокоспецифичный агонист ГР, вводили животным с целью провокации и потенцирования возраст-ассоциированных ГКС-индуцированных изменений [24]. Дексаметазон вводили в дозе 1 мг/кг, внутрибрюшинно (в/б), ежедневно, в течение 10 дней [24]. В качестве лекарственной формы сукцината, преодолевающей гематоэнцефалический барьер, был использован препарат Мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (ЭМГП) сукцинат; 50 мг/мл, ООО «НПК «ФАРМАСОФТ», Россия). Мексидол вводили в дозе 100 мг/кг, в/б, через 1 ч после инъекции дексаметазона, ежедневно, в течение 10 дней.

С целью оценить влияние ЭМГП на анализируемые показатели был использован препарат Эмоксипин (ЭМГП гидрохлорид; 10 мг/мл; ООО «Московский эндокринный завод», Россия), через 1 ч после инъекции дексаметазона, в/б в дозе 68 мг/кг (содержит ЭМГП в количестве (54 мг/кг), эквивалентном его содержанию в примененной дозе Мексидола), ежедневно в течение 10 дней.

Были выполнены три серии эксперимента: 1-я — 10-дневное введение дексаметазона; 2-я — 10-дневное комбинированное введение дексаметазона с Мексидолом; 3-я — 10-дневное комбинированное введение дексаметазона с Эмоксипином. В каждой серии в соответствии с этапами выведения животных из эксперимента (через 1 сут после 1, 3, 7, 10-го дня курса) были сформированы четыре опытные (по 5 животных в каждой) и четыре контрольные (по 3 животных в каждой) группы. Контрольным животным вводился физиологический раствор в объемах, соответствующих вводимым препаратам. Крыс декапитировали под эфирным наркозом. Мозг извлекали, отделяли на льду КГМ. Образцы быстро замораживали и хранили в жидком азоте.

Замороженные образцы КГМ растирали в жидком азоте до порошкообразного состояния. Навески массой 100 мг лизировали на льду в течение 30 мин в охлажденном до 2 °C лизис-буфере в соотношении 1V ткань: 6V буфер [25]. После центрифугирования (30 мин, 14 000 g, 4 °C) супернатант смешивали с загрузочным буфером (4x Laemmli Sample Buffer), инкубировали 5 мин при 95 °C и хранили при −80 °C. Концентрацию общего белка в пробах определяли спектрофотометрически по методу Бредфорда. Белки лизата КГМ разделяли в 10% полиакриламидном геле, переносили на нитроцеллюлозную мембрану электроэлюцией. Мембрану инкубировали с первичными моноклональными антителами (разведение 1:500; 14 ч; 4 °C; «Santa Cruz Biotechnology», США) против цитокинов: IL-1β (Interleukin 1β, sc-515598), TNF-α (Tumor Necrosis Factor α, sc-52746), IL-10 (interleukin 10; sc-57245), TGF-β1 (Transforming Growth Factor β1, sc-130348); маркеров биогенеза митохондрий: PGC-1α (Peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator 1α, sc-518025), NDUFV2 (NADH:Ubiquinone Oxidoreductase Subunit V2, sc-515589), SDHA (Succinate Dehydrogenase Complex Subunit A, sc-166909), cyt c1 (Cytochrome c1, sc-514435), COX2 (Cytochrome c oxidase subunit II, sc-514489), ATP5A (ATP synthase mitochondrial F1 complex subunit alpha, sc-136178); маркера ангиогенеза VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor, sc-365578), нейротрофина BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor, sc-65514), GR (Glucocorticoid Receptor, sc-393232); с первичными поликлональными антителами (разведение 1:2000; 14 ч; 4 °C; «Abcam», Великобритания) против SUCNR1 (Succinate Receptor, ab140795); вторичными антителами (разведение 1:5000; 1 ч; 4 °C), коньюгированными с пероксидазой хрена (Anti-mouse sc-516102; Anti-rabbit ab6721). В качестве контроля использовали антитела к актину (sc-376421). Детектирование белков осуществляли в реакции с ECL-реагентами («Pierce Biotechnology, Inc.», США) на пленку фирмы «Kodak» с последующей денситометрией в программе Adobe Photoshop 7.0 («Adobe Systems», США). О содержании искомых белков судили по плотности окрашивания полосы связывания антител с белком. Результат выражали в относительных денситометрических единицах (ОДЕ).

Статистический анализ проведен с использованием непараметрического рангового U-критерия Манна—Уитни. Различия между сравниваемыми группами считали статистически достоверными при $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

Влияние изолированного введения дексаметазона и в комбинации с Мексидолом на уровень экспрессии про- и противовоспалительных цитокинов в КГМ старых крыс. Ранее нами было показано, что в КГМ белых беспородных крыс-самцов возрастзависимо (от 3 до 18 мес) увеличивается содержание провоспалительных цитокинов (TNF-α, IL-1β), а противовоспалительных (TGF-β1) — снижается, что связано с формированием воспалительно-дистрофического фенотипа стареющей микроглии и предопределяет развитие в мозге старых крыс хронического вялотекущего асептического воспаления [21].

Введение старым крысам высокоспецифичного агониста ГР дексаметазона в дозе 1 мг/кг ежедневно в течение 10 дней вызывало снижение содержания как провоспалительных (TNF-α, IL-1β), так и противовоспалительных (IL-10, TGF-β1) цитокинов в КГМ крыс через 1 сут после 1-й инъекции на 10—20%, 40—50% после 3-й и 7-й инъекций, на 70% — после 10-й инъекции, в сравнении с контро-

лем **(рис. 1)**. Динамика репрессии про- и противовоспалительных цитокинов была однотипной, что редко освещается в литературе, но является принципиально значимым для понимания роли ГКС/ГР-сигнализации в развитии эффективной иммуносупрессии, но не разрешения воспаления. Хорошо известно, что ГР по механизму непрямой трансрепрессии подавляют активность провоспалительных факторов транскрипции (NFkB, AP1, STAT1) [11]. Более того, ГР, гетеродимеризуясь со структурно близкими ядерными рецепторами/факторами транскрипции противовоспалительного действия (Peroxisome Proliferator Activated Receptor, PPAR; Estrogen Related Receptor, ERR; Androgen Receptor, AR; Progesterone Receptor, PR; Estrogen Receptor, ER), блокируют их активность и, таким образом, экспрессию противовоспалительных цитокинов [7]. Полученные результаты согласуются с данными других авторов, показавших при системном введении гидрокортизона подавление экспрессии про- и противовоспалительных цитокинов в печени крыс [26]. Важно отметить, что ГКС/ГР-регуляция блокирует синтез белка на уровне инициации трансляции, что влечет за собой снижение экспрессии широкого спектра белков с регуляторной, сигнальной, ферментативной активностью и опосредует быстрые иммуносупрессивные эффекты супрафизиологических доз ГКС [27].

Введение Мексидола через 1 ч после введения дексаметазона сопровождалось слабым увеличением уровня экспрессии определяемых цитокинов, которое достигало достоверных значений для IL-10 и TGF-β1 **(см. рис. 1)**. Ранее нами было показано, что курсовое введение Мексидола старым крысам сопровождается увеличением экспрессии противовоспалительных цитокинов, формированием высокоразветвленного гомеостатического фенотипа микроглии, характерного для молодых и взрослых особей крыс, что было сопряжено с активацией митохондрио- и ангиогенеза [20—22]. Индукция биогенеза митохондрий является критически значимым механизмом формирования противовоспалительного фенотипа микроглии/макрофагов [16].

Влияние изолированного введения дексаметазона и в комбинации с Мексидолом на уровень экспрессии белков-маркеров митохондриогенеза в КГМ старых крыс. Введение дексаметазона старым крысам вызывало снижение уровня экспрессии всех определяемых белков-маркеров митохондриогенеза: каталитических субъединиц дыхательных ферментов митохондрий (NDUFV2 комплекса I дыхательной цепи, SDHA комплекса II, цитохром (cyt) c1 комплекса III, COX2 комплекса IV), АТФ-синтазы (ATP5A комплекса V) и транскрипционного коактиватора PGC-1α, определяющего активность ключевых факторов транскрипции (Nuclear Respiratory Factor, NRF1/2, ERRα, PPARγ), вовлеченных в митохондриогенез **(рис. 2)**. Наиболее раннее снижение содержания (через 1 сут после первой инъекции дексаметазона) выявляли для PGC-1α **(см. рис. 2)**. ГКС/ГР подавляют экспрессию гена *PGC-1α*, что позволяет рассматривать этот регулятор биогенеза митохондрий как наиболее чувствительную и значимую мишень ГКС-опосредованной супрессии митохондриальной функции как при хроническом стрессе и старении, так и при терапии ГКС [3].

После 3-й инъекции дексаметазона снижение содержания для NDUFV2, COX2, ATP5A, PGC1α варьировало от 20 до 30% и достигало 40—60% после 10-й инъекции **(см. рис. 2)**. Наиболее значительная супрессия отмечалась для SDHA и cyt c1 (на 50—60% после 3-й инъекции и на 70—80% в конце курса), что свидетельствует о глубоких нарушениях в работе митохондрий (митохондриальная дисфункция) и механизмах энергопродукции, поскольку именно сукцинатдегидрогеназа, проявляя фумаратредуктазную активность в условиях гипоксии, стресса, воспаления, генерирует янтарную кислоту и поддерживает механизмы энергопродукции в экстремальных условиях [14]. Выявленный эффект можно рассматривать как подавление ГКС/ГР-сигнализацией ми-

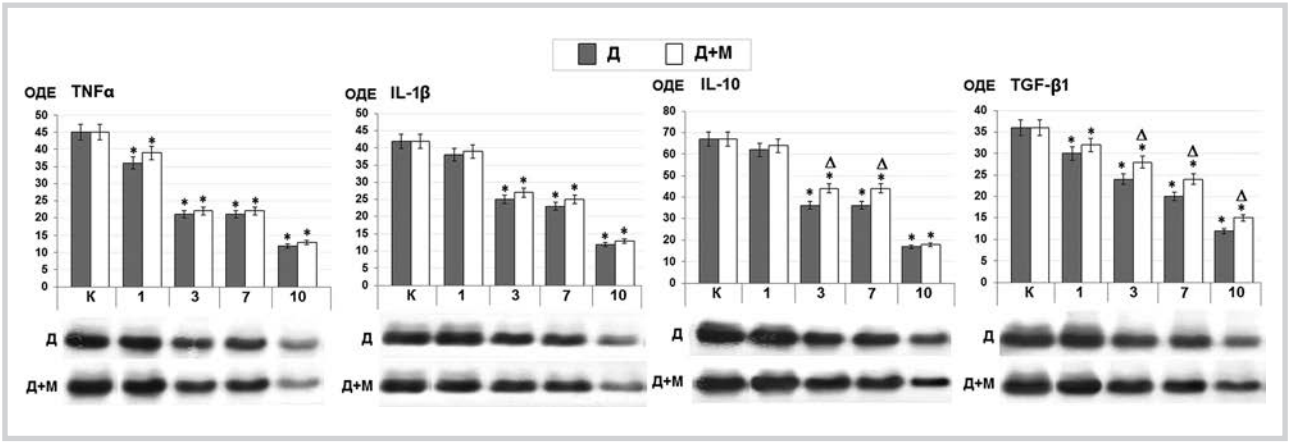


Рис 1. **Динамика экспрессии провоспалительных (TNF-α, IL-1β) и противовоспалительных (IL-10, TGF-β1) цитокинов в КГМ 18-месячных крыс при изолированном введении дексаметазона (1 мг/кг, в/б, ежедневно, 10 дней) и в комбинации с Мексидолом (100 мг/кг, в/б, ежедневно, 10 дней; через 1 ч после введения дексаметазона).**

Здесь и на **рис. 2** и **3**: ОДЕ — относительные денситометрические единицы. * — отличия статистически значимы по сравнению с контролем (К) (p<0,01). Δ — отличия статистически значимы по сравнению с группой крыс, получивших дексаметазон (Д, p<0,01), в соответствующем временном периоде. 1, 3, 7, 10 — дни курсового изолированного введения Д и в комбинации с Мексидолом (Д+М).

Fig 1. **Dynamics of expression of pro-inflammatory (TNF-α, IL-1β) and anti-inflammatory (IL-10, TGF-β1) cytokines in the cerebral cortex of old (18-month-old) rats with isolated administration of dexamethasone (1 mg/kg, i.p., daily, 10 days) and in combination with Mexidol (100 mg/kg, i.p., daily, 10 days; one hour after administration of dexamethasone).**

Here and in **Fig. 2** and **3**: the results of densitometric analysis of immunoblots are shown. ОДЕ — relative densitometric units. * — data differ from control (K) (p<0.01). Δ — data differ from the group of rats injected with dexamethasone (p<0.01) in the corresponding time period. 1, 3, 7, 10 — days of a course of isolated dexamethasone (Д) administration and in combination with Mexidol (Д+М).

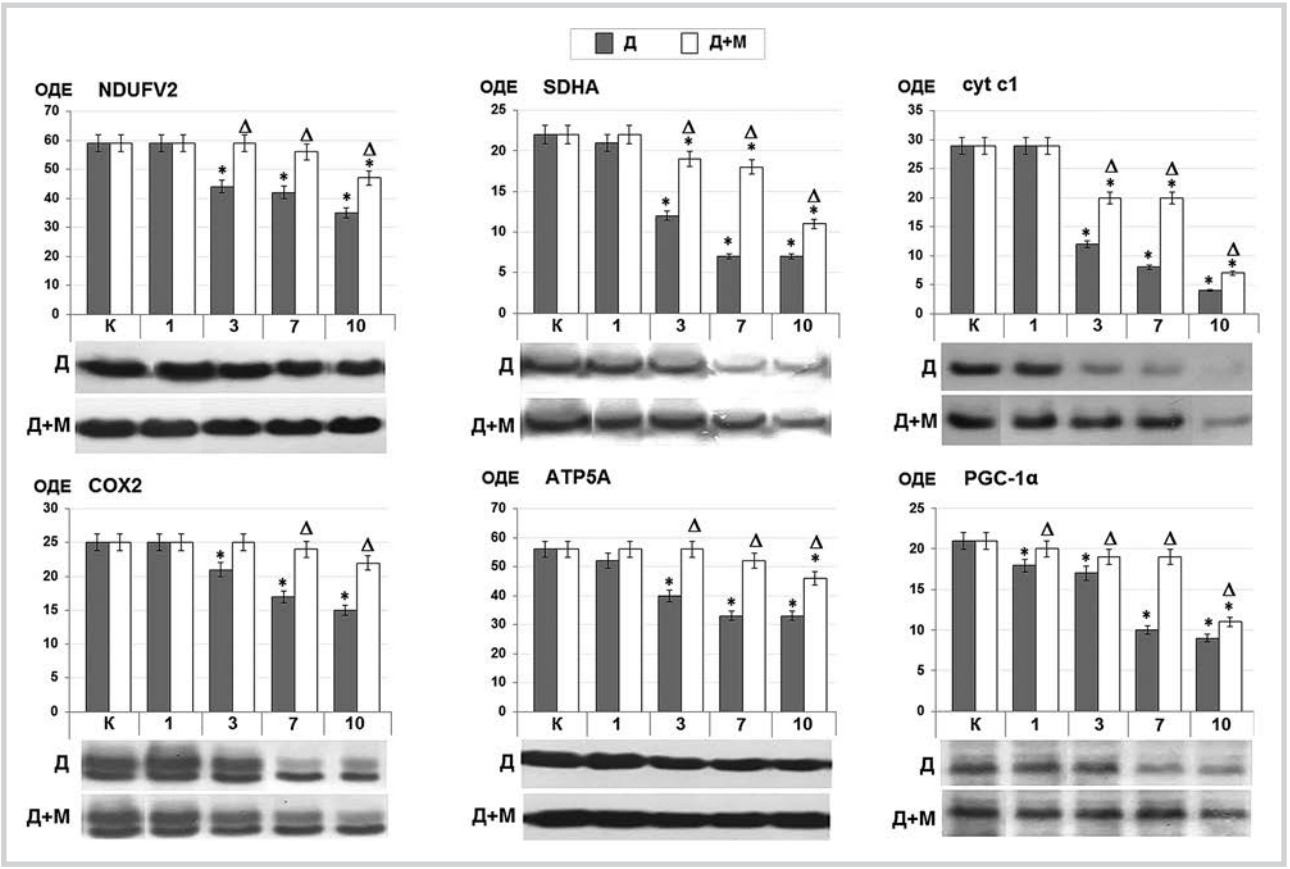


Рис. 2. **Динамика экспрессии каталитических субъединиц дыхательных ферментов (NDUFV2, SDHA, cyt c1, COX2) и АТФ-синтазы (ATP5A), транскрипционного коактиватора PGC-1α в коре головного мозга старых (18-месячных) крыс при изолированном введении дексаметазона (1 мг/кг, в/б, ежедневно, 10 дней) и в комбинации с мексидолом (100 мг/кг, в/б, ежедневно, 10 дней; через 1 ч после введения дексаметазона).**

Fig. 2. **Dynamics of expression of catalytic subunits of respiratory enzymes (NDUFV2, SDHA, cyt c1, COX2) and ATP synthase (ATP5A), transcriptional coactivator PGC-1α in the cerebral cortex of old (18-month-old) rats with isolated administration of dexamethasone (1 mg/kg, i.p., daily, 10 days) and in combination with Mexidol (100 mg/kg, i.p., daily, 10 days; one hour after administration of dexamethasone).**

тохондриальной продукции сукцината и сукцинат/SUCNR1-сигнализации, что обосновывает необходимость введения сукцината и усиления сукцинатной сигнализации как при старении, так и при терапии ГКС.

Введение Мексидола после каждой инъекции дексаметазона значимо увеличивало уровень экспрессии всех тестируемых белков-маркеров митохондриогенеза, а в случае NDUFV2, COX2, ATP5A, PGC-1α нормализовало экспрессию на протяжении 7 дней эксперимента. Содержание SDHA и cyt c1 увеличивалось в 1,6 и 2,5 раза после 3-го и 7-го комбинированного введения соответственно в сравнении с группой крыс, инъецированных дексаметазоном **(см. рис. 2)**. Стимулирующее влияние сукцинат/SUCNR1-сигнализации на биогенез митохондрий и экспрессию PGC-1α ранее было показано у интактных крыс [18, 20], но в представленной работе впервые продемонстрирована положительная сукцинат/SUCNR1-зависимая регуляция биогенеза митохондрий в условиях дексаметазон-индуцированной супрессии PGC-1α и каталитических субъединиц дыхательных ферментов. Таким образом, Мексидол не влиял на иммуносупрессивную активность дексаметазона, но минимизировал один из наиболее опасных эффектов супрафизиологических доз ГКС — супрессию митохондриогенеза и митохондриальную дисфункцию.

Влияние изолированного введения дексаметазона и в комбинации с Мексидолом на уровень экспрессии ГР, SUCNR1, VEGF, BDNF в КГМ старых крыс. Повышенный уровень циркулирующих ГКС, характерный для старения, сопровождается подавлением экспрессии ГР, развитием резистентности к ГКС и гиперактивацией ГГН-оси [2]. В представленном исследовании введение дексаметазона в супрафизиологической дозе ожидаемо снизило уровень экспрессии ГР в КГМ старых крыс на 20% после 1-й инъекции и на 40—50% в последующие дни курса, в сравнении с контролем **(рис. 3)**. Механизм подавления экспрессии ГР реализуется при связывании ГР-негативных ГКС-отвечающих элементов в промоторе собственного гена (отрицательная ауторегуляция) [6].

Введение Мексидола вызывало увеличение экспрессии ГР в КГМ крыс, инъецированных дексаметазоном, до уровня контроля **(см. рис. 3)**. Полученный эффект увеличения экспрессии ГР можно расценивать как протективный, потенцирующий механизм подавления активности ГГН-оси, и направленный на ограничение ГКС-регуляции. Таким образом, ГКС/ГР- и сукцинат/SUCNR1-сигнальные системы оказывают взаимоподавляющее влияние: ГКС/ГР — через репрессию сукцинатдегидрогеназы и продукции янтарной кислоты, а сукцинат/SUCNR1 — через увеличение чувствительности ГГН-оси к отрицательной регуляции ГКС.

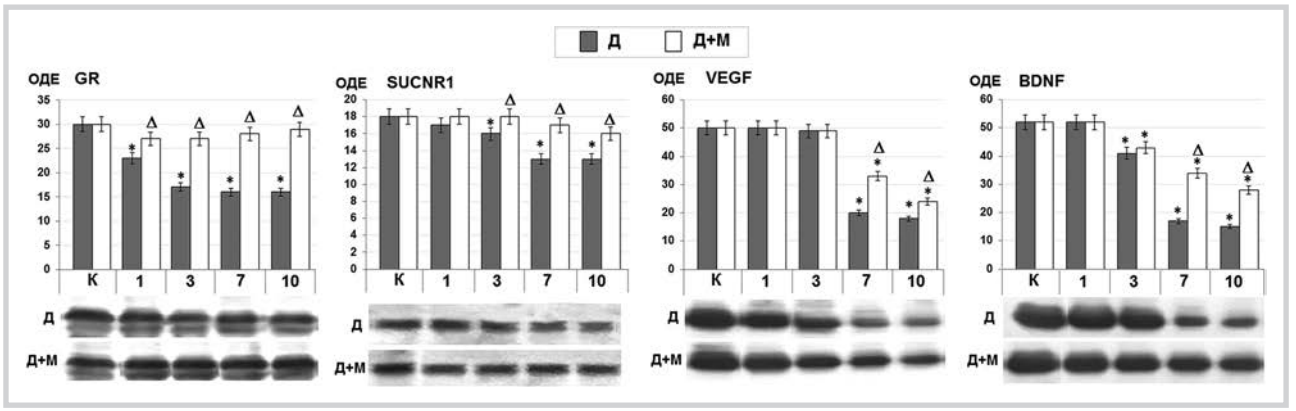


Рис. 3. **Динамика экспрессии глюкокортикоидного рецептора GR, сукцинатного рецептора SUCNR1, фактора роста эндотелия сосудов VEGF, нейротрофина BDNF в коре головного мозга старых (18-месячных) крыс при изолированном введении дексаметазона (1 мг/кг, в/б, ежедневно, 10 дней) и в комбинации с мексидолом (100 мг/кг, в/б, ежедневно, 10 дней; через 1 ч после введения дексаметазона).**

Fig. 3. **Dynamics of expression of the glucocorticoid receptor GR, succinate receptor SUCNR1, vascular endothelial growth factor VEGF, neurotrophin BDNF in the cerebral cortex of old (18-month-old) rats with isolated administration of dexamethasone (1 mg/kg, i.p., daily, 10 days) and in combination with Mexidol (100 mg/kg, i.p., daily, 10 days; one hour after dexamethasone administration).**

Экспрессия SUCNR1 также умеренно снижалась при введении дексаметазона, не более 20% на протяжении эксперимента **(см. рис. 3**). Введение Мексидола после каждой инъекции дексаметазона сопровождалось увеличением уровня SUCNR1 до контрольного **(см. рис. 3**). Сукцинат-индуцированное увеличение экспрессии SUCNR1 было показано в других исследованиях и является свидетельством активации рецептора и увеличения чувствительности клеток к сукцинату [15, 18].

ГКС в супрафизиологических концентрациях стимулируют атрофические процессы в головном мозге, подавляя ключевые регуляторы базовых процессов пластичности и выживаемости нейронов: BDNF (активатор митохонондриогенеза, главный синаптогенный фактор мозга), VEGF (активатор ангиогенеза), PGC-1α (интегратор вне- и внутриклеточных сигналов в индукции митохондрио- и ангиогенеза) [3]. В нашем исследовании введение дексаметазона вызывало снижение уровня экспрессии VEGF и BDNF в сходной динамике: на 20% после 3-й инъекции, на 60 и 70% после 7-й и 10-й инъекций соответственно **(см. рис. 3).**

Введение Мексидола через 1 ч после каждой инъекции дексаметазона вызывало увеличение уровня экспрессии BDNF и VEGF в 1,5 раза после 7-го и 10-го дней курса, в сравнении с крысами, инъецированными дексаметазоном **(см. рис. 3).** Сукцинат/SUCNR1-сигнализация активирует кальциевый сигнальный каскад, Ca^{2+}/КМ-зависимую протеинкиназу, способствует индукции и активации PGC-1α — координатора активности широкого спектра ядерных рецепторов (PPAR, ERR, AR, ER, PR), оказывающих антиглюкокортикостероидное действие (ингибируют транскрипционную активность ГР), стимулирующих экспрессию генов *IL-10, TGF-β, VEGF, BDNF, PGC-1α* [7—9, 14, 16, 17]. Более того, сукцинат/SUCNR1-сигнализация стимулирует синтез белка (инициацию трансляции) [18], что может потенцировать в выявленный в настоящем исследовании Мексидол-индуцированный эффект увеличения содержания всех тестированных белков, включая противовоспалительные цитокины, маркеры митохондрио-, ангио-, синаптогенеза и собственно ГР.

Все наблюдаемые для Мексидола эффекты не воспроизводились при курсовом введении Эмоксипина после каждой очередной инъекции дексаметазона, что указывает на ключевую роль сукцинат/SUCNR1-опосредованного механизма наблюдаемых протективных эффектов ЭМГП сукцината (Мексидол).

Заключение

Таким образом, в исследовании впервые показано, что применение ЭМГП сукцината оказывает протективное действие при хроническом введении супрафизиологических доз ГКС в стареющий организм, минимизирует ГКС-индуцированную супрессию митохондрий и ангиостатические эффекты, активирует механизмы разрешения воспаления в условиях терапии ГКС воспалительных состояний в пожилом и старческом возрасте.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflicts of interest.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Franceschi C, Campisi J. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J Gerontol.* 2014;69(suppl 1):S4–S9. https://doi.org/10.1093/gerona/glu057
2. Stamou M, Colling C, Dichtel L. Adrenal Aging and Its Effects on the Stress Response and Immunosenescence. *Maturitas.* 2023;168:13–19. https://doi.org/10.1016/j.maturitas.2022.10.006

3. Choi G, Han H. Glucocorticoid Impairs Mitochondrial Quality Control in Neurons. *Neurobiol Dis*. 2021;152:105301. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2021.105301
4. Logie J, Ali S, Marshall K, et al. Glucocorticoid-Mediated Inhibition of Angiogenic Changes in Human Endothelial Cells Is Not Caused by Reductions in Cell Proliferation or Migration. *PLoS ONE*. 2010;5(12):e14476. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014476
5. Vanderhaeghen T, Timmermans S, Watts D, et al. Reprogramming of Glucocorticoid Receptor Function by Hypoxia. *EMBO reports*. 2022;23:e53083. https://doi.org/10.15252/embr.202153083
6. Dostert A, Heinzel T. Negative Glucocorticoid Receptor Response Elements and Their Role in Glucocorticoid Action. *Curr Pharmaceutical Des*. 2004;10:2807-2816. https://doi.org/10.2174/1381612043383601
7. Bereshchenko O, Bruscoli S, Riccardi C. Glucocorticoids, Sex Hormones, and Immunity. *Front Immunol*. 2018;9:1332. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01332
8. Torrens-Masa M, Ponsa D, Sastre-Serra J, et al. Sexual Hormones Regulate the Redox Status and Mitochondrial Function in the Brain. Pathological Implications. *Redox Biol*. 2020;101505 https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101505
9. Singh B, Sinha R, Tripathi M, et al. Thyroid Hormone Receptor and ERRα Coordinately Regulate Mitochondrial Fission, Mitophagy, Biogenesis, and Function. *Sci Signal*. 2018;11(536):eaam5855. https://doi.org/10.1126/scisignal.aam5855
10. Sun Q, Li J, Gao F. New Insights into Insulin: the Anti-Inflammatory Effect and Its Clinical Relevance. *World J Diabet*. 2014;5(2):89-96. https://www.wjgnet.com/1948-9358/full/v5/i2/89.htm
11. Daskalakis N, Meijer O, Kloet E. Mineralocorticoid Receptor and Glucocorticoid Receptor Work Alone and Together in Cell-Type-Specific Manner: Implications for Resilience Prediction and Targeted Therapy. *Neurobiol Stress*. 2022;18:100455. https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2022.100455
12. Blinkouskaya Y, Caçoilo A, Gollamudi T, et al. Brain Aging Mechanisms with Mechanical Manifestations. *Mech Ageing and Development*. 2021;200:111575. https://doi.org/10.1016/j.mad.2021.111575
13. Kiani A, Elyasi H, Ghoreyshi S, et al. Study on Hypoxia-Inducible Factor and Its Roles in Immune System. *Immunol Med*. 2021;44(4):223-36. https://doi.org/10.1080/25785826.2021.1910187
14. Krzak G, Willis C, Smith J, et al. Succinate Receptor 1: an Emerging Regulator of Myeloid Cell Function in Inflammation. *Trends Immunol*. 2021;42(1):45-58. https://doi.org/10.1016/j.it.2020.11.004
15. Hamel D, Sanchez M, Duhamel F, et al. G-Protein–Coupled Receptor 91 and Succinate are Key Contributors in Neonatal Postcerebral Hypoxia-Ischemia Recovery. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34:285-293. https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.113.302131
16. Trauelsen M, Hiron T, Lin D, et al. Extracellular Succinate Hyperpolarizes M2 Macrophages through SUCNR1/GPR91-Mediated Gq Signaling. *Cell Rep*. 2021;35:109246. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109246
17. Keiran N, Ceperuelo-Mallafré V, Calvo E, et al. SUCNR1 controls an anti-inflammatory program in macrophages to regulate the metabolic response to obesity. *Nature Immunol*. 2019;20(5):581-592. https://doi.org/10.1038/s41590-019-0372-7
18. Wang T, Xu Y, Yuan Y, et al. Succinate induces skeletal muscle fiber remodeling via SUCNR1 signaling. *EMBO Rep*. 2019;20:e47892. https://doi.org/10.15252/embr.201947892
19. Cherif H, Duhamel F, Cécyre B, et al. Receptors of Intermediates of Carbohydrate Metabolism, GPR91 and GPR99, Mediate Axon Growth. *PLOS Biol*. 2018;16(5):e2003619. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003619
20. Кирова Ю.И., Шакова Ф.М., Германова Э.Л. и др. Влияние мексидола на церебральный митохондриогенез в молодом возрасте и при старении. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2020;120(1):62-69.
Kirova YI, Shakova FM, Germanova EL, et al. The effect of mexidol on cerebral mitochondriogenesis at a young age and during aging. *S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry*. 2020;120(1):62-69. (In Russ.). https://doi.org/10.17116/jnevro202012001162
21. Kirova Y, Shakova F, Voronina T. 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. https://doi.org/10.1134/S1990747821060040
22. 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.
Kirova YuI, Terekhina OL, Shakova FM. Morpho-functional features of astrocytes and microglia in the brain of ageing rat during the course of ethylmethylhydroxypyridine succinate treatment. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimentalnaya terapiya*. 2022;66(1):4-16. (In Russ.). https://doi.org/10.25557/0031-2991.2022.01.4-16
23. Terekhina OL, Kirova YuI. Ethylmethylhydroxypyridine Succinate Limits Stress-Induced Neuroinflammation in the Cerebral Cortex of Old Rats. *Biochemistry (Moscow). Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*. 2023;17(4):311-318. https://doi.org/10.1134/s1990747823050124
24. Mesripour A, Asghari-Varzaneh M, Safaeian L. An Overview of Animal Models Induced by Glucocorticoids. *Physiol Pharmacol*. 2023;27:211-233. https://doi.org/10.61186/phypha.27.3.211
25. Baghirova S, Hughes B, Hendzel M, et al. Sequential Fractionation and Isolation of Subcellular Proteins from Tissue or Cultured Cells. *MethodsX*. 2015;2:440-445. https://doi.org/10.1016/j.mex.2015.11.001
26. Liu X, Cui H, Niu H, et al. Hydrocortisone Suppresses Early Paraneoplastic Inflammation and Angiogenesis to Attenuate Early Hepatocellular Carcinoma Progression in Rats. *OncoTargets and Therapy*. 2019;12:9481. https://doi.org/10.2147/OTT.S224618
27. Shah O, Kimball S, Jefferson L. Acute Attenuation of Translation Initiation and Protein Synthesis by Glucocorticoids in Skeletal Muscle. *Am J Physiology-Endocrinol Metabol*. 2000;278:E76-E82. https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.278.1.E76

Поступила 03.07.2024
Received 03.07.2024
Принята к печати 09.07.2024
Accepted 09.07.2024