

УДК 547.461.4:616.831-002:612.013.1:616.8-008.615:599.323.4

ЭТИЛМЕТИЛГИДРОКСИПИРИДИНА СУКЦИНАТ ОГРАНИЧИВАЕТ СТРЕСС-ИНДУЦИРОВАННОЕ НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА СТАРЫХ КРЫС

© 2023 г. О. Л. Терехина^а, Ю. И. Кирова^{а, *}

^аНаучно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии,
Москва, 125315 Россия

*e-mail: bioenerg@mail.ru

Поступила в редакцию 17.04.2023 г.

После доработки 30.05.2023 г.

Принята к публикации 02.06.2023 г.

В старении организма и развитии возраст-ассоциированных заболеваний триггерным механизмом признается гиперактивация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой нейроэндокринной оси, гиперсекреция глюкокортикоидов, оказывающих при чрезмерной и долговременной стимуляции воспалительно-дегенеративные эффекты. Хронический стресс усугубляет глюкокортикоид-зависимые атрофические изменения в стареющем мозге, усиливает нейровоспаление и неврологическую дисфункцию, является ключевым фактором риска болезни Альцгеймера. В коррекции асептического нейровоспаления у лиц пожилого и старческого возраста патогенетически обосновано применение противовоспалительных агентов, проявляющих антиглюкокортикоидные (проанаболические) и антиглутаматные (антиэксайтотоксические) эффекты. Сукцинат/SUCNR1-сигнализация задействована в развитии иммуномодулирующих, трофических, антигипоксических эффектов, однако ее роль в механизмах стресс-реакции остается неисследованной. Цель работы заключалась в оценке влияния сукцинат/SUCNR1-сигнализации на развитие стресс-индуцированного нейровоспаления в коре головного мозга старых крыс. Работа была выполнена на белых беспородных крысах-самцах в возрасте 18 мес. Хронический иммобилизационный стресс моделировали путем 6-часового ограничения подвижности животных в индивидуальных пластиковых пеналах ежедневно на протяжении 5 дней. В качестве формы сукцината, преодолевающей гематоэнцефалический барьер, был использован препарат мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (ЭМГП) сукцинат). Мексидол вводили внутривентрикулярно в дозе 100 мг/кг ежедневно на протяжении 5 дней за 15 мин до начала стрессирования. В образцах коры головного мозга (КГМ) методом иммуноблоттинга определяли содержание провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α), противовоспалительных цитокинов (TGF- β 1, IL-10), глюкокортикоидных рецепторов (GR α), транскрипционного коактиватора PGC-1 α , сукцинатного рецептора SUCNR1/GPR91, фактора роста эндотелия сосудов VEGF. Было показано, что хронический иммобилизационный стресс вызывал увеличение уровня IL-1 β и TNF- α в курсе стрессирования, что сопровождалось снижением содержания противовоспалительных цитокинов, SUCNR1, GR α , PGC-1 α . Курсовое введение ЭМГП сукцината ограничило развитие стресс-индуцированного нейровоспаления в КГМ старых крыс, предотвратило снижение уровня SUCNR1, IL-10, TGF- β 1, PGC-1 α , GR α . Исследование впервые раскрывает стресс-протекторный потенциал сукцинат/SUCNR1-сигналинга в мозге старых крыс, связанный с активацией PGC-1 α -зависимых противовоспалительных механизмов в условиях хронического стресса.

Ключевые слова: старение, нейровоспаление, стресс, сукцинат, SUCNR1, крысы

DOI: 10.31857/S0233475523050122, **EDN:** QZWKTБ

ВВЕДЕНИЕ

Старение организма сопровождается прогрессивной системной вялотекущей асептической воспалением, провоцирующей и потенцирующей развитие возраст-ассоциированных патологий. Несмотря на высокую медико-социальную значимость проблемы старческого персистирующего воспаления, причины и механизмы этого явления остаются не вполне понимаемыми, также как

подходы к его коррекции [1]. Специфической характеристикой старения является гиперактивация нейроэндокринной гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (ГГН) оси и гиперпродукция глюкокортикоидов (ГК), которая признается триггерным и центральным механизмом в биологии старения человека [2]. Наиболее пагубно гиперкортизолемию влияет на нервную ткань, поскольку вызывает супрессию биогенеза митохон-

дрий и ангиогенеза, дистрофические изменения нейронов и глии, амилоидогенез, нейровоспаление [3–5]. ГК через активацию глюкокортикоидных рецепторов (ГР) индуцируют экспрессию субъединиц ионотропных глутаматных NMDA-рецепторов (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR), являются аллостерическими активаторами NMDA-рецепторов, потенцируют эксайтотоксическую гибель нейронов и NMDA-рецептор-зависимую провоспалительную поляризацию микроглии [6, 7].

Хронический стресс в старческом возрасте усугубляет ГК/ГР-зависимые воспалительно-дегенеративные изменения в гиппокампе и префронтальной коре, способствует снижению когнитивных функций и рассматривается как ведущий фактор в развитии болезни Альцгеймера [3, 4]. Таким образом, в коррекции старческого асептического нейровоспаления патогенетически обосновано применение противовоспалительных агентов, проявляющих антиглюкокортикоидные (проанаболические) и антиглутаматные (антиэксайтотоксические) эффекты [3].

В качестве клинически значимых препаратов при возрастном неразрешимом асептическом нейровоспалении могут быть использованы агонисты ядерных рецепторов/лигандзависимых факторов транскрипции, сочетающих противовоспалительную и антиглюкокортикоидную активность: селективные модуляторы эстрогеновых и андрогеновых рецепторов, тиазолидиндионы (агонисты PPAR γ , peroxisome proliferator activated receptor), фибраты (агонисты PPAR α), статины (агонисты ER α , estrogen related receptor), для многих из которых при продолжительном приеме показана кардио- и гепатотоксичность, риск тромбоза и онкологических заболеваний [8–10]. В связи с чем разработка эффективных и безопасных фармакоагентов, купирующих хроническое неразрешимое воспаление, вызванное глюкокортикоидной гиперстимуляцией и дефицитом проанаболических регуляторов, является одним из наиболее перспективных фармакологических подходов (resolution pharmacology) к коррекции старческого персистирующего воспаления [11].

В исследованиях 2016–2022 годов была установлена иммуномодулирующая активность эндогенного метаболита, интермедиата цикла трикарбоновых кислот янтарной кислоты (сукцинат), реализуемая через активацию специфического G-белок-сопряженного сукцинатного рецептора SUCNR1, экспрессируемого иммунocyтaми всех типов [12]. SUCNR1 является сенсором экстраклеточного сукцината, продукция которого увеличивается при гипоксии/ишемии и воспалениях в восстановительном (обращенном) цикле Кребса [13]. В 2021 году было показано, что сукцинат SUCNR1 опосредованно вызывает противовоспалительную гиперполяризацию макрофагов [14].

SUCNR1 отрицательно регулирует воспалительную активацию макрофагов, снижая экспрессию мРНК IL-1 β и секрецию IL-6 и TNF- α [15]. Сукцинат/SUCNR1-сигнализация в центральной нервной системе (ЦНС) оказывает антигипоксические и трофические эффекты, такие как активация ангиогенеза, митохондриогенеза, аксонального роста [16–18]. Более того, сукцинат проявляет противосудорожное, анксиолитическое, седативное действие и потенциально антиэксайтотоксическую активность [19–21]. В 2021–2022 годах нами было показано, что курсовое применение сукцинатсодержащего препарата мексидола (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (ЭМГП) сукцинат) оказывает противовоспалительное действие при хроническом старческом нейровоспалении, увеличивает экспрессию маркеров и формирование морфологических черт гомеостатического (разветвленного) фенотипа микроглии в коре головного мозга и CA1 поле гиппокампа стареющих крыс [22, 23].

Стресс сопряжен как с нейровоспалением, так и с гипоксией [3], однако роль сукцината как ключевого антигипоксического и противовоспалительного (иммунометаболит) сигнала в развитии стресс-реакции остается неисследованной.

Цель работы заключалась в оценке влияния ЭМГП сукцината на развитие стресс-индуцированного нейровоспаления в коре головного мозга стареющих крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование было выполнено на белых беспородных крысах-самцах в возрасте 18 мес ($n = 120$), выращенных в стандартных условиях вивария ФГБНУ “НИИ общей патологии и патофизиологии” 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”, Директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза по охране животных, используемых в научных целях. Протоколы экспериментов были утверждены локальным этическим комитетом ФГБНУ “НИИОПП” (протокол утверждения планируемого исследования № 1 от 03.03.2022, протокол утверждения завершенного исследования № 1 от 01.02.2023).

Хронический иммобилизационный стресс моделировали путем ограничения подвижности животных в индивидуальных пластиковых пеналах (15 × 9 × 9 см) с вентиляционными отверстиями. На протяжении стрессирующего воздействия животные не имели доступа к пище и воде, находились под ярким направленным освещением. Продолжительность иммобилизации составляла 6 ч в

день (12:00–18:00). Стрессирование проводили ежедневно в течение 5 дней [24].

В качестве формы сукцината, преодолевающей гематоэнцефалический барьер, в работе был использован сукцинатсодержащий препарат мексидол (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина (ЭМГП) сукцинат, 50 мг/мл, ООО “НПК “ФАРМАСОФТ”) для внутрибрюшинного (в/б) введения в дозе 100 мг/кг ежедневно в течение 5 дней за 15 мин до начала стрессирования. С целью оценить влияние ЭМГП на анализируемые показатели был использован препарат эмоксипин (ЭМГП гидрохлорид, 10 мг/мл, Московский эндокринный завод) для в/б введения в дозе 68 мг/кг, содержащей ЭМГП в количестве (54 мг/кг), эквивалентном его содержанию в примененной дозе мексидола. ЭМГП гидрохлорид вводили ежедневно в течение 5 дней за 15 мин до начала стрессорного воздействия.

Было выполнено три экспериментальные серии: (1) 5-дневное стрессирование 18-месячных крыс; (2) 5-дневное стрессирование 18-месячных крыс с предварительным введением ЭМГП сукцината; (3) 5-дневное стрессирование 18-месячных крыс с предварительным введением ЭМГП гидрохлорида. В каждой серии были сформированы пять контрольных групп ($n = 3$ в каждой) и пять опытных групп ($n = 5$ в каждой) в соответствии с количеством дней стрессирования. Животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом сразу после стресс-сеанса. Мозг извлекали, отделяли на льду кору головного мозга (КГМ). Образцы КГМ 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 лизис-буфер; 50 mM HEPES, pH 7.6, 150 mM NaCl, 2 mM EGTA, 1% Triton X-100, 10% глицерин, 1 mM дитиотреитол, 1 mM Na_3VO_4 , 1 mM AEBSF, 60 мкг/мл апротинин, 10 мкг/мл леупептин, 1 мкг/мл пепстатин А) (Sigma-Aldrich, США) [25]. После центрифугирования (30 мин, 14000g, 4°C) супернатант, содержащий искомые белки, смешивали с загрузочным буфером (4× Laemmli Sample Buffer), инкубировали 5 мин при 95°C и хранили при –80°C. Концентрацию общего белка в пробах определяли спектрофотометрически по методу Бредфорд. Белки лизата КГМ разделяли в 10% полиакриламидном геле, переносили на нитроцеллюлозную мембрану электроэлюцией. Мембрану инкубировали с первичными антителами (разведение 1 : 500, 14 ч, 4°C, Santa Cruz Biotechnology, США) против IL-1 β (interleukin 1 β ; sc-515598), TNF- α (tumor necrosis factor α ; sc-52746), IL-10 (interleukin 10; sc-57245), TGF- β 1 (transforming growth fac-

tor β 1; sc-130348), PGC-1 α (peroxisome proliferator activated receptor γ coactivator 1 α , sc-518025), GR α/β (glucocorticoid receptor α/β , sc-393232), SUCNR1 (succinate receptor 1, sc-50466), VEGF (vascular endothelial growth factor, sc-365578), вторичными антителами (разведение 1 : 5000, 1 ч, 4°C), конъюгированными с пероксидазой хрена (anti-mouse sc-516102, anti-rabbit sc-2030). 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 данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США) с использованием непараметрического рангового *U*-критерия Уилкоксона–Манна–Уитни. Различия между сравниваемыми группами считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было показано, что в КГМ 18-месячных стареющих крыс в сравнении с 3-месячными (молодыми) и 6-месячными (средневозрастными) крысами развивается воспалительная поляризация микроглии и хроническое умеренное нейровоспаление: увеличивается содержание провоспалительных цитокинов IL-1 β и TNF- α , снижается уровень экспрессии иммуносупрессивного цитокина TGF- β 1, а также сукцинатного рецептора SUCNR1 и одного из ключевых регуляторов реализации противовоспалительных и проанаболитических программ (митохондриогенез, ангиогенез) – транскрипционного коактиватора PGC-1 α [17, 22], вызывающего транспрессию провоспалительного фактора транскрипции NF- κ B (nuclear factor kappa B), активацию широкого спектра противовоспалительных факторов транскрипции (ERR α , PPAR α , PPAR γ , GR α , рецепторы половых, тиреоидных гормонов) и необходимого для противовоспалительной поляризации микроглии/макрофагов [26–31].

Модель хронического иммобилизационного стресса, использованная в представленной работе, вызвала прогрессирующее в ходе повторяющихся стресс-сеансов увеличение содержания провоспалительных цитокинов IL-1 β , TNF- α в КГМ 18-месячных крыс (на 40 и 25% соответственно после 5-го стресс-сеанса, рис. 1а, 1б), что происходило сопряженно с уменьшением содержания противовоспалительных цитокинов TGF- β 1 и IL-10 на 20 и 30% соответственно (рис. 1в, 1г), супрессией GR α на 20% и PGC-1 α на 40% (рис. 1д, 1е).

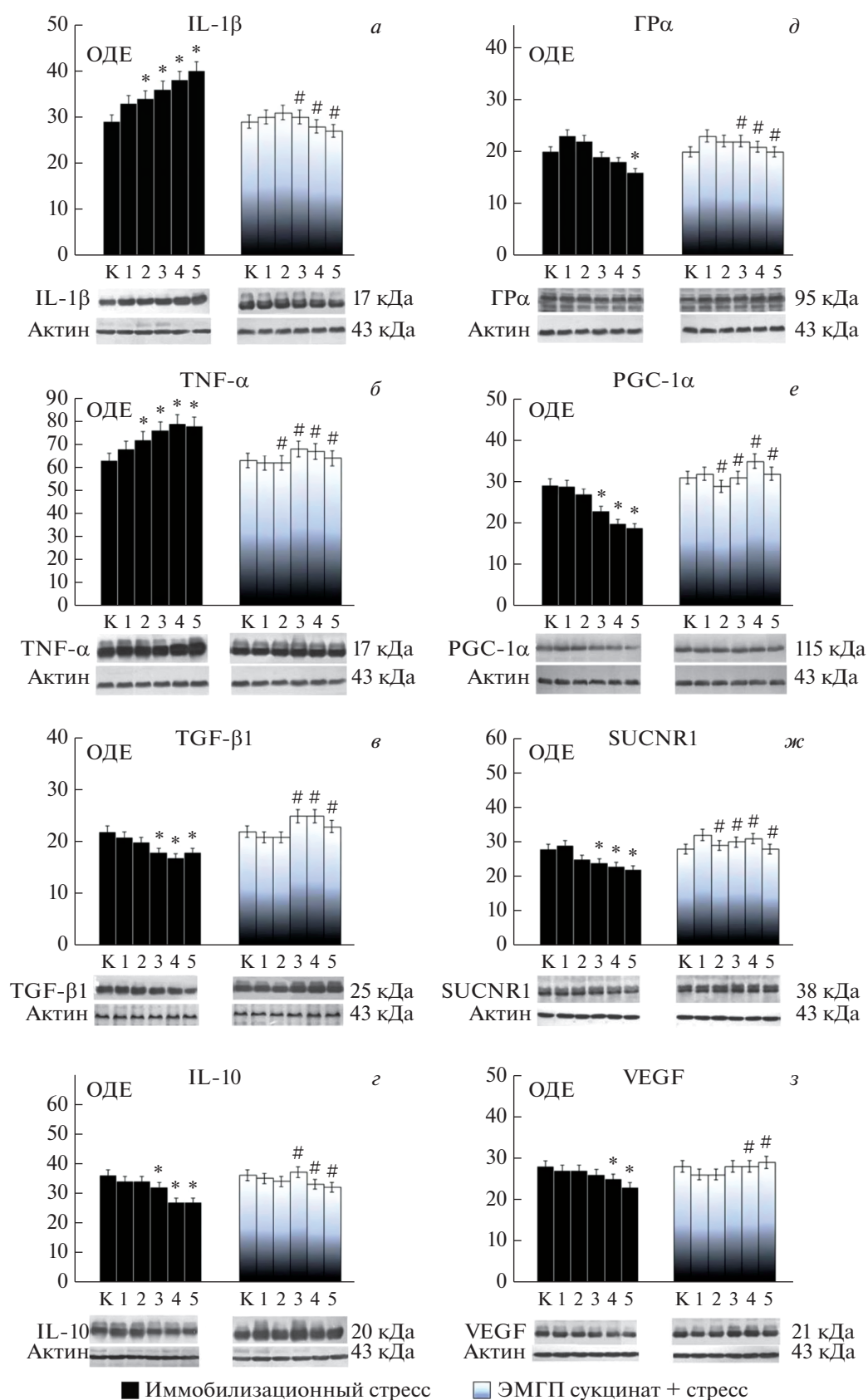
В условиях хронической иммобилизации в КГМ стареющих крыс происходило снижение содержания SUCNR1 и маркера ангиогенеза VEGF (на 20% после 5-го стресс-сеанса, рис. 1ж, 1з). Сукцинат/SUCNR1 служит определяющей сигнальной системой активации церебрального ангиогенеза в условиях гипоксического стресса [13, 16], что связано с экспоненциальным увеличением содержания сукцината и экспрессии SUCNR1 при гипоксии, однако у старых животных отмечается снижение эффективности сукцинат-продуцирующих механизмов [32], базовой экспрессии SUCNR1 [22] и в условиях хронического иммобилизационного стресса, что ведет к возрастному ослаблению сукцинат/SUCNR1-зависимых противогипоксических механизмов (ангиогенез) и гипоксической индукции механизмов воспаления [26]. В целом полученные данные указывают на развитие стресс-индуцированного воспаления в КГМ старых крыс, отражают известный феномен неконтролируемого воспалительного ответа микроглии стареющего мозга на иммунный стимул (праймирование микроглии) [26] и свидетельствуют о возрастзависимом снижении эффективности в ЦНС стресс-протекторных механизмов.

Введение ЭМГП сукцината старым крысам перед каждым эпизодом иммобилизации ограничивало развитие стресс-индуцированной экспрессии воспалительных цитокинов на протяжении курса стрессирования и предотвращало снижение экспрессии противовоспалительных цитокинов (рис. 1а–1з). Введение ЭМГП сукцината отменяло стрессорную супрессию $\text{GR}\alpha$, $\text{PGC-1}\alpha$, SUCNR1 и маркера активности сукцинатного рецептора VEGF в КГМ старых крыс (рис. 1д–1з). Курсовое введение ЭМГП гидрохлорида перед каждым стрессированием не оказывало значимого влияния на определяемые параметры, что указывает на ключевую роль сукцината в ограничении стресс-индуцированного нейровоспаления в КГМ старых крыс.

При обсуждении роли сукцинат/SUCNR1-сигнализации в развитии стресс-реакции и стресс-индуцированного нейровоспаления необходимо подчеркнуть, что ГК – стресс-реализующие гормоны ГГН-оси, признаны самыми сильными

физиологическими противовоспалительными сигналами, которые оказывают на микроглию иммуносупрессивные эффекты, существенно превосходящие влияние широко применяемых противовоспалительных фармакопрепаратов (ибупрофена, индометацина, миноциклина). Микроглия экспрессирует ГР в высоких количествах, что делает ее чувствительной мишенью ГК [33]. Иммуносупрессивные эффекты ГК/ГР оказывают ДНК-независимо, напрямую взаимодействуя с провоспалительными факторами транскрипции (транспрессия по механизму белок-белкового взаимодействия), такими как NF- κ B, AP1 (activator protein 1), IRF (interferon regulatory factor), STAT (signal transducer and activator of transcription) [34]. Геномные ГР-опосредованные эффекты ГК являются провоспалительными, что особенно критично проявляется в нервной ткани и связано с: (1) индукцией субъединиц NMDA-рецептора, потенцированием глутаматной эксайтотоксичности и NMDA-рецептор-зависимой провоспалительной поляризации микроглии [6, 7]; (2) супрессией ангиогенеза и стимуляцией гипоксической провоспалительной поляризации микроглии [5]; (3) супрессией митохондриогенеза и сопряженным снижением выживаемости нейронов [4]; (4) индукцией генов амилоидного предшественника (APP) и амилоидогенного фермента BACE1 (beta-site APP-cleaving enzyme 1), накоплением β -амилоида, вызывающего воспалительную поляризацию микроглии [35]. В молодом и зрелом возрасте воспалительно-дегенеративные гено-опосредованные эффекты ГК/ГР блокируются антиглюкокортикоидными и противовоспалительными эффектами половых и тиреоидных гормонов: (1) половые гормоны являются естественными эндогенными антагонистами ГР [27]; (2) рецепторы половых гормонов гетеродимерируются с ГР, отменяя транскрипционную активность последних [27]; (3) андрогеновый рецептор блокирует экспрессию кортикотропин-рилизинг-гормона, подавляя активность ГГН-оси [36]; (4) эстрогены и прогестерон являются аллостерическими активаторами ГАМК(A)-рецепторов, оказывая антиглутаматное и антиэксайтотоксическое действие [37]; (5) эстрогеновые (ЭР), андрогеновые (АР), тиреоидные рецепторы (ТР), подобно ГР, вызывают транспрессию провос-

Рис. 1. Динамика экспрессии провоспалительных цитокинов IL-1 β (а), TNF- α (б), иммуносупрессивных цитокинов TGF- β 1 (в), IL-10 (г), глюкокортикоидных рецепторов ($\text{GR}\alpha$) (д), транскрипционного коактиватора $\text{PGC-1}\alpha$ (е), сукцинатного рецептора SUCNR1 (ж), фактора роста эндотелия сосудов VEGF (з) в коре головного мозга старых (18-месячных) крыс на протяжении 5-дневного иммобилизационного стресса и при курсовом введении ЭМГП сукцината (100 мг/кг, в/б, ежедневно, 5 дней, за 15 мин до стрессирования). Показаны результаты денситометрического анализа иммуноблотов. ОДЕ – относительные денситометрические единицы, К – контроль, 1, 2, 3, 4, 5 – дни стрессорного воздействия (ежедневное 6-часовое ограничение подвижности). * – данные отличаются от контроля ($p < 0.01$). # – данные отличаются от группы 18-месячных стрессированных крыс в соответствующем временном периоде ($p < 0.01$). IL-1 β – interleukin 1 beta, TNF- α – tumor necrosis factor alpha, TGF- β 1 – transforming growth factor beta 1, IL-10 – interleukin 10, $\text{PGC-1}\alpha$ – peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha, SUCNR1 – succinate receptor 1, VEGF – vascular endothelial growth factor.



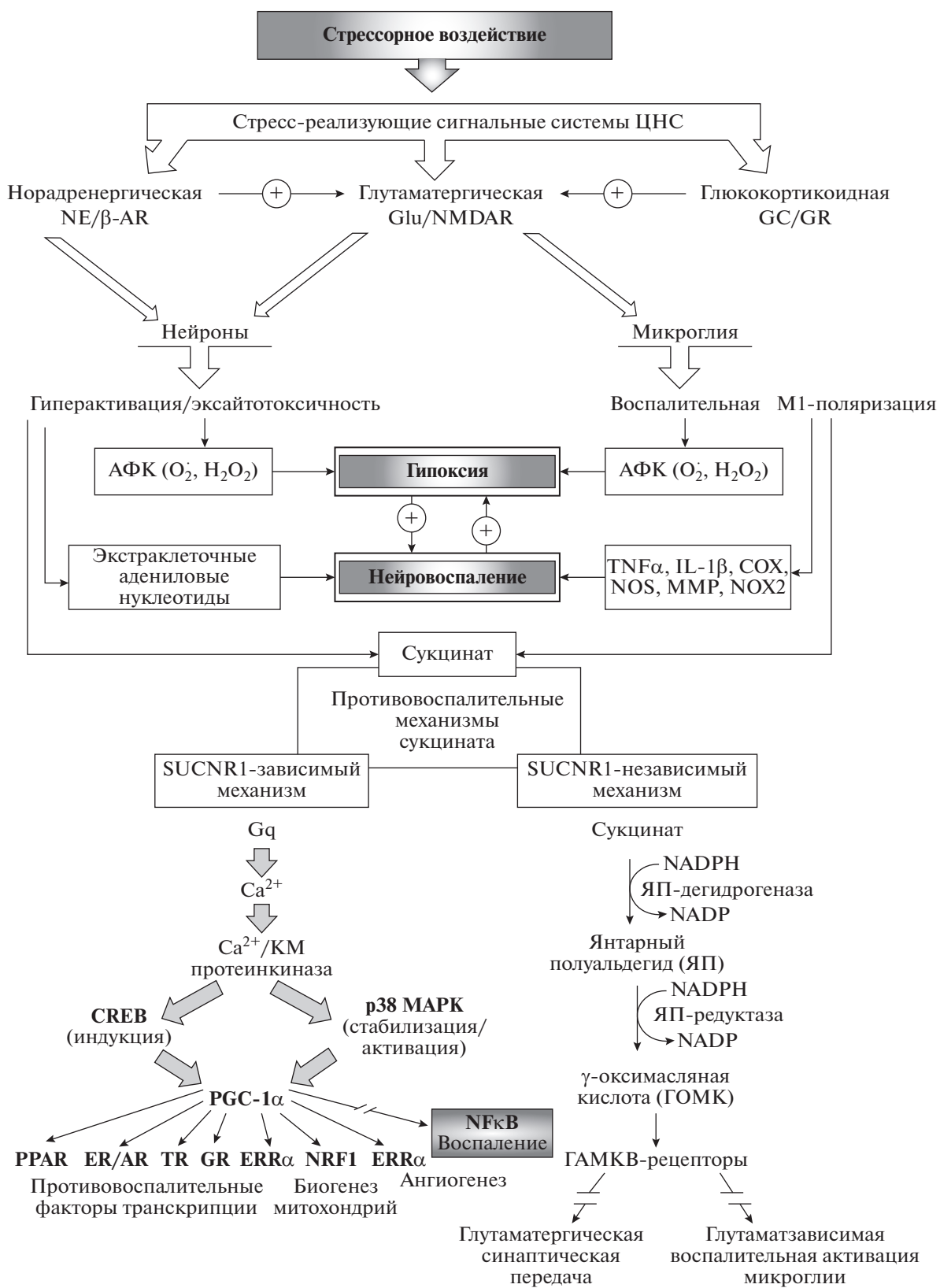


Рис. 2. Схема механизмов развития стресс-индуцированного нейровоспаления и противовоспалительной активности янтарной кислоты. В развитии воспалительной стресс-индуцированной поляризации микроглии ключевую роль играют микроглиальные глутаматные ионотропные NMDA-рецепторы, экспрессия и активность которых положительно регулируется глюкокортикоидными и β -адренорецепторами, экспрессируемыми микроглией. Продукция сукцината митохондриями (восстановительный/обращенный цикл Кребса) увеличивается в условиях стресса и сопряженной гипоксии, вызванной высоким потреблением кислорода активированными нейронами и микроглией. Сукцинат, активируя специфичный рецептор SUCNR1/GPR91 через $G\alpha_q$ -зависимые механизмы, инициирует PGC-1 α -зависимую противовоспалительную поляризацию микроглии. Последовательное двухэтапное восстановление сукцината до γ -оксимасляной кислоты (ГОМК) и ГОМК-зависимая активация ГАМК(B)-рецепторов нейронов и микроглии вызывает торможение глутаматергической передачи (антиэксайтотоксическое действие) и блокаду глутаматзависимой провоспалительной поляризации микроглии. Сокращения: NE – норэпинефрин, AR – адренорецепторы, Glu – глутамат, NMDAR – N-methyl-D-aspartate receptor, GC – глюкокортикоиды, GR – глюкокортикоидные рецепторы, АФК – активные формы кислорода, TNF α – tumor necrosis factor α , IL-1 β – interleukin 1 β , COX – cyclooxygenase, iNOS – inducible NO synthase, MMP – matrix metalloproteinases, NOX2 – NADPH oxidase 2, КМ – кальмодулин, CREB – cAMP response element-binding protein, p38 MAPK – mitogen-activated protein kinase, PGC-1 α – peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha, PPAR – peroxisome proliferator-activated receptors, ER/AR – estrogen receptors/androgen receptors, TR – thyroid hormone receptors, ERR α – estrogen related receptor α , NRF1 – nuclear respiratory factor 1, NF κ B – nuclear factor kappa B, ГАМК(B)-рецепторы – рецепторы γ -аминомасляной кислоты B.

палительных факторов транскрипции (NF- κ B, AP1, STAT) [27, 30]. Более того, ЭР и ТР активируют экспрессию гена PGC-1 α – транскрипционного коактиватора, определяющего активность широкого спектра факторов транскрипции противовоспалительного и трофического действия (рецепторы половых и тиреоидных гормонов, ERR α , PPAR α , PPAR γ), в то время как ГР вызывают супрессию гена PGC-1 α [4, 8, 30].

В условиях возрастного ГК/ГР-зависимого подавления активности гипоталамо-гипофизарно-гонадной и гипоталамо-гипофизарно-тиреоидной осей механизмы антиглюкокортикоидной и антиглутаматной защиты ослабевают, что предопределяет прогрессию стерильного системного и нейровоспаления в стареющем организме [38]. В этой связи стимуляция сукцинат/SUCNR1-сигналикации, активация G_q -белка и внутриклеточных сигнальных путей противовоспалительной поляризации микроглии [14], сопряженных с положительной регуляцией PGC-1 α , как было показано в представленном исследовании, может служить действенным подходом увеличения репаративного и трофического потенциала микроглии. Важно отметить, что сукцинат/SUCNR1-сигнализация является ключевой системой активации церебрального ангиогенеза в условиях гипоксии [16] и, таким образом, ограничивает гипоксическую провоспалительную поляризацию микроглии. Противовоспалительные эффекты сукцината могут быть не связаны с SUCNR1 [15]. В условиях стресса и сопряженной гипоксии вследствие гиперактивации нейронов и микроглии сукцинат через стадию восстановления до янтарного полуальдегида является предшественником γ -гидроксимасляной кислоты (ГОМК), которая активирует ГАМК(B)-рецепторы, вызывает индукцию K^+ -проводимости в микроглии и ослабляет глутамат-индуцированную воспалительную микроглиальную активацию. ГОМК, воздействуя на пресинаптические ГАМК(B)-рецепторы, подавляет глутамат-опосредованные

синаптические ответы (антиэксайтотоксическое действие) [39] (рис. 2).

Таким образом, сукцинат вовлекается в механизмы стресс-сигналикации, оказывает SUCNR1-опосредованные и SUCNR-независимые иммунотонизирующие эффекты, ограничивая стресс-индуцированное нейровоспаление.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хронический стресс вызывает воспалительные-дегенеративные изменения в лимбических структурах головного мозга, провоцирует тяжелую нейродисфункцию в старческом возрасте и прогрессию нейродегенеративных патологий. Представленная работа впервые продемонстрировала вовлеченность сукцинат/SUCNR-сигналикации в ограничение стресс-индуцированного нейровоспаления в КГМ старых крыс. Стимуляция сукцинат/SUCNR1-сигналикации является перспективным подходом к коррекции стресс-индуцированной и возраст-ассоциированной гиперактивации ГГН-оси как центрального механизма в развитии хронического асептического нейровоспаления.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Соответствие принципам этики. Все применимые международные, национальные и институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Franceschi C., Campisi J. 2014. Chronic inflammation (inflammaging) and its potential contribution to age-associated diseases. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* **69** (S1), S4–S9.
2. Thompson M.E., Fox S.A., Berghanel A., Sabbi K.H., Phillips-Garcia S., Enigk D.K., Otali E., Machanda Z.P., Wrangham R.W., Muller M.N. 2020. Wild chimpan-

- zees exhibit humanlike aging of glucocorticoid regulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **117** (15), 8424–8430.
3. Canet G., Chevallier N., Zussy C., Desrumaux C., Givalois L. 2018. Central role of glucocorticoid receptors in Alzheimer's disease and depression. *Front. Neurosci.* **12**, 739.
 4. Choi G.E., Han H.J. 2021. Glucocorticoid impairs mitochondrial quality control in neurons. *Neurobiol. Dis.* **152**, 105301.
 5. Logie J.J., Ali S., Marshall K.M., Heck M.M.S., Walker B.R., Hadoke P.W.F. 2010. Glucocorticoid-mediated inhibition of angiogenic changes in human endothelial cells is not caused by reductions in cell proliferation or migration. *PLoS One*. **5** (12), e14476.
 6. Tse Y.C., Bagot R.C., Wong T.P. 2012. Dynamic regulation of NMDAR function in the adult brain by the stress hormone corticosterone. *Front. Cell. Neurosci.* **6** (9), 1–14.
 7. Sugama S., Kakinuma Y. 2020. Stress and brain immunity: microglial homeostasis through hypothalamus-pituitary-adrenal gland axis and sympathetic nervous system. *Brain Behav. Immun. Health*. **7**, 100111.
 8. Saito K., Cui H. 2018. Emerging roles of estrogen-related receptors in the brain: Potential interactions with estrogen signaling. *Int. J. Mol. Sci.* **19** (4), 1091.
 9. Arbo B.D., Schimith L.E., Santos M.G., Hort M.A. 2022. Repositioning and development of new treatments for neurodegenerative diseases: Focus on neuroinflammation. *Eur. J. Pharmacol.* **919**, 174800.
 10. Grygiel-Gorniak B. 2014. Peroxisome proliferator-activated receptors and their ligands: Nutritional and clinical implications – a review. *Nutr. J.* **13** (1), 17.
 11. Perretti M., Leroy X., Bland E.J., Montero-Melendez T. 2015. Resolution pharmacology: Opportunities for therapeutic innovation in inflammation. *Trends Pharmacol. Sci.* **36** (11), 737–755.
 12. Krzak G., Willis C.M., Smith J.A., Pluchino S., Peruzzotti-Jametti L. 2021. Succinate receptor 1: An emerging regulator of myeloid cell function in inflammation. *Trends Immunol.* **42** (1), 45–58.
 13. Lukyanova L.D., Kirova Y.I. 2015. Mitochondria-controlled signalling mechanisms of brain protection in hypoxia. *Front. Neurosci.* **9**, 320.
 14. Trauelsen M., Hiron T.K., Lin D., Petersen J.E., Bretton B., Husted A.S. 2021. Extracellular succinate hyperpolarizes M2 macrophages through SUCNR1/GPR91-mediated Gq signaling. *Cell Rep.* **35** (11), 109246.
 15. Harber K.J., Goede K.E., Verberk S.G.S., Meinster E., Vries H.E., Weeghel M., Winther M.P.J., Bossche J.V. 2020. Succinate is an inflammation-induced immunoregulatory metabolite in macrophages. *Metabolites*. **10** (9), 372.
 16. Hamel D., Sanchez M., Duhamel F., Roy O., Honore J.C., Noueihed B., Zhou T., Nadeau-Vallee M., Hou X., Lavoie J.C., Mitchell G., Mamer O.A., Chemtob S. 2014. G-protein-coupled receptor 91 and succinate are key contributors in neonatal postcerebral hypoxia-ischemia recovery. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **34** (2), 285–293.
 17. Кирова Ю.И., Шакова Ф.М., Германова Э.Л., Романова Г.А., Воронина Т.А. 2020. Влияние Мексидола на церебральный митохондриогенез в молодом возрасте и при старении. *Журн. неврол. и психиатр. им. С.С. Корсакова*. **120** (1), 62–69.
 18. Cherif H., Duhamel F., Cecyre B., Bouchard A., Quintal A., Chemtob S., Bouchard J.F. 2018. Receptors of intermediates of carbohydrate metabolism, GPR91 and GPR99, mediate axon growth. *PLoS Biol.* **16** (5), e2003619.
 19. Jin Y., Zhang S.S. 1980. The inhibitory effect of succinic acid on the central nervous system. *Yao Xue Xue Bao*. **15** (12), 761–763.
 20. Yue W., Liu Y.X., Zang D.L., Zhou M., Zhang F., Wang L. 2002. Inhibitory effects of succinic acid on chemical kindling and amygdale electrical kindling in rats. *Acta Pharmacol. Sin.* **23** (9), 847–850.
 21. Chen S.W., Xin Q., Kong W.X., Min L., Li J.F. 2003. Anxiolytic-like effect of succinic acid in mice. *Life Sci.* **73** (25), 3257–3264.
 22. Kirova Y.I., Shakova F.M., Voronina T.A. 2021. Ethylmethylhydroxypyridine succinate induces anti-inflammatory polarization of microglia in the brain of aging rat. *Biochem. Cell Biol.* **15** (4), 356–364.
 23. Кирова Ю.И., Терехина О.Л., Шакова Ф.М. 2022. Морфофункциональные особенности астроцитов и микроглии в мозге стареющих крыс при курсовом применении этилметилгидроксипиридина сукцината. *Пат. физиол. и эксп. тер.* **66** (1), 4–16.
 24. Atrooz F., Alkadhi K.A., Salim S. 2021. Understanding stress: Insights from rodent models. *Curr. Res. Neurobiol.* **2**, 100013.
 25. Baghirova S., Hughes B.G., Hendzel M.J., Schulz R. 2015. Sequential fractionation and isolation of subcellular proteins from tissue or cultured cells. *MethodsX*. **2**, 440–445.
 26. Niraula A., Sheridan J.F., Godbout J.P. 2017. Microglia priming with aging and stress. *Neuropsychopharmacology*. **42** (1), 318–333.
 27. Bereshchenko O., Bruscoli S., Riccardi C. 2018. Glucocorticoids, sex hormones, and immunity. *Front. Immunol.* **9**, 1332.
 28. Madalena K.M., Lerch J.K. 2017. The effect of glucocorticoid and glucocorticoid receptor interactions on brain, spinal cord, and glial cell plasticity. *Neural. Plast.* **2017**, 8640970.
 29. Eisele P.S., Salatino S., Sobek J., Hottiger M.O., Handschin C. 2013. The peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 α/β (PGC-1) coactivators repress the transcriptional activity of NF- κ B in skeletal muscle cells. *J. Biol. Chem.* **288** (4), 2246–2260.
 30. Singh B.K., Sinha R.A., Tripathi M., Mendoza A., Ohba K., Sy J.A.C., Xie S.Y., Zhou J., Ho J.P., Chang C.Y., Wu Y., Giguère V., Bay B.H., Vanacker J.M., Ghosh S., Gauthier K., Hollenberg A.N., McDonnell D.P., Yen P.M. 2018. Thyroid hormone receptor and ERR α coordinately regulate mitochondrial fission, mitophagy, biogenesis, and function. *Sci. Signal.* **11** (536), eaam5855.
 31. Rius-Perez S., Torres-Cuevas I., Millan I., Ortega A.L., Perez S. 2020. PGC-1 α , inflammation, and oxidative stress: An integrative view in metabolism. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2020**, 1452696.
 32. Chen T.T., Maevsky E.I., Uchitel M.L. 2015. Maintenance of homeostasis in the aging hypothalamus: The

- central and peripheral roles of succinate. *Front. Endocrinol.* **6**, 7.
33. Abe N., Nishihara T., Yorozya T., Tanaka J. 2020. Microglia and macrophages in the pathological central and peripheral nervous systems. *Cells.* **9** (9), 2132.
 34. Daskalakis N.P., Meijer O.C., Kloet E.R. 2022. Mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor work alone and together in cell-type-specific manner: Implications for resilience prediction and targeted therapy. *Neurobiol. Stress.* **18**, 100455.
 35. Nicola A.F., Meyer M., Guennoun R., Schumacher M., Hunt H., Belanoff J., Kloet E.R., Deniselle M.C.G. 2020. Insights into the therapeutic potential of glucocorticoid receptor modulators for neurodegenerative diseases. *Int. J. Mol. Sci.* **21** (6), 2137.
 36. Bao A.M., Fischer D.F., Wu Y.H., Hol E.M., Balesar R., Unmehopa U.A., Zhou J.N., Swaab D.F. 2006. A direct androgenic involvement in the expression of human corticotropin-releasing hormone. *Mol. Psychiatry.* **11** (6), 567–576.
 37. Bianchi V.E., Rizzi L., Bresciani E., Omeljaniuk R., Torsello A. 2020. Androgen therapy in neurodegenerative diseases. *J. Endocr. Soc.* **4** (11), bvaa120.
 38. Dostert A., Heinzel T. 2004. Negative glucocorticoid receptor response elements and their role in glucocorticoid action. *Curr. Pharm. Des.* **10** (23), 2807–2816.
 39. Kamal R.M., Noorden M.S., Franzek E., Dijkstra B.A.G., Loonen A.J.M., De Jong C.A.J. 2016. The Neurobiological mechanisms of gamma-hydroxybutyrate dependence and withdrawal and their clinical relevance: A review. *Neuropsychobiology.* **73** (2), 65–80.

Ethylmethylhydroxypyridine Succinate Limits Stress-Induced Neuroinflammation in the Cerebral Cortex of Old Rats

O. L. Terekhina¹, Y. I. Kirova¹, *

¹Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, 125315 Russia

*e-mail: bioenerg@mail.ru

In the aging and the development of age-associated diseases, the trigger mechanism is the hyperactivation of the hypothalamic-pituitary-adrenal neuroendocrine axis, hypersecretion of glucocorticoids, which, under excessive and long-term stimulation, have inflammatory and degenerative effects. Chronic stress exacerbates glucocorticoid-dependent atrophic changes in the aging brain, increases neuroinflammation and neurological dysfunction, and is a key risk factor for Alzheimer's disease. In the correction of aseptic neuroinflammation in elderly and senile patients, the use of anti-inflammatory agents that exhibit anti-glucocorticoid (pro-anabolic) and anti-glutamate (anti-excitotoxic) effects is pathogenetically justified. Succinate/SUCNR1 signalling is involved in the development of immunomodulatory, trophic, and antihypoxic effects; however, its role in the mechanisms of the stress response remains unexplored. The aim of this study was to assay the impact of succinate/SUCNR1 signalling on the development of stress-induced neuroinflammation in the cerebral cortex of old rats. The work was performed on outbred albino male rats at the age of 18 months. Chronic restraint stress was modelled by immobilizing animals in individual plastic cages for 6 h daily for 5 days. Mexidol (2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine (EMHP) succinate) was used as a form of succinate that crosses the blood-brain barrier. Mexidol was administered intraperitoneally to old rats at a dose of 100 mg/kg daily for 5 days 15 min before the onset of stress. The levels of proinflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α), anti-inflammatory cytokines (TGF- β 1, IL-10), glucocorticoid receptors (GR α), transcriptional coactivator PGC-1 α , succinate receptor SUCNR1/GPR91, and vascular endothelial growth factor (VEGF) were determined by immunoblotting in cerebral cortex (CC) samples. It was shown that chronic immobilization stress caused an increase in the level of IL-1 β and TNF- α during stress, which was accompanied by a decrease in the content of anti-inflammatory cytokines, SUCNR1, GR α , PGC-1 α . The course administration of EMHP succinate limited the development of stress-induced neuroinflammation in the CC of old rats and prevented a decrease in the levels of SUCNR1, IL-10, TGF- β 1, PGC-1 α , and GR α . The study reveals for the first time the stress-protective potential of succinate/SUCNR1 signalling in the brain of old rats associated with the activation of PGC-1 α -dependent anti-inflammatory mechanisms under conditions of chronic stress.

Keywords: aging, neuroinflammation, stress, succinate, SUCNR1, rats