

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-294

**ВЛИЯНИЕ МНОГОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА СОСТАВ И СТРУКТУРУ  
ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ТКАНИ ГОЛОВНОГО МОЗГА МЫШЕЙ\*****EFFECT OF MULTIPLE DEXAMETHASONE ADMINISTRATION ON THE COMPOSITION  
AND STRUCTURE OF THE EXTRACELLULAR MATRIX IN MOUSE BRAIN TISSUE**

С. Д. Аладьев, Д. К. Соколов, А. В. Строкотова, Э. В. Григорьева

*Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и биофизики, Новосибирск*

S. D. Aladev, D. K. Sokolov, A. V. Strokotova, E. V. Grigorieva

*Scientific Research Institute of Molecular Biology and Biophysics, Novosibirsk*

✉ s.aladev@alumni.nsu.ru

**Аннотация**

Дексаметазон широко применяется при лечении различных заболеваний, однако длительное его применение имеет побочные эффекты, механизмы которых остаются малоизвестными. В этой работе было изучено влияние многократного отсроченного (15–90 суток) введения дексаметазона на компоненты внеклеточного матрикса нормальной ткани головного мозга. В качестве методов изучения этого эффекта были выбраны: окраска парафиновых срезов альциановым синим с разным pH, ОТ-ПЦР, вестерн-блоттинг и дот-блот. В результате было показано, что дексаметазон оказывал влияние на различные компоненты внеклеточного матрикса в нормальной ткани головного мозга мышей.

**Abstract**

Dexamethasone is widely used in the treatment of various diseases, but their long-term use has side effects, the mechanisms of which remain little known. In this work we studied the effect of multiple delayed (15–90 days) administration of dexamethasone on the components of the extracellular matrix of normal brain tissue. The following methods were chosen to study this effect: staining of paraffin sections with Alcian blue with different pH, RT-PCR, Western-blotting and dot-blot. As a result, it was shown that dexamethasone had an effect on various components of extracellular matrix in the normal brain tissue of mice.

Дексаметазон (DXM) широко используется в клинике при лечении заболеваний различного генеза, таких как глиобластома, COVID-19, рассеянный склероз и др. DXM обладает противоопухолевым, противовоспалительным, противоаллергическим действиями, однако имеет ряд побочных эффектов. Известно, что действие DXM реализуется через глюкокортикоидный рецептор (GR). Зачастую исследования касаются темы побочных воздействий DXM на различные органы, но до сих пор остается малоизученным его влияние на внеклеточный матрикс (ВКМ) ткани головного мозга мышей. В свою очередь, ВКМ головного мозга является уникальной структурой, поскольку почти не содержит гликопротеины, а преимущественно состоит из гиалуроновой кислоты и сложных молекул протеогликанов (ПГ) [1]. ПГ состоят из корового белка и длинных линейных полисахаридных цепей гликозаминогликанов (ГАГ), имеющих различную степень сульфатирования [2]. ГАГ классифицируют как общие, несulfатированные (гиалуроновая кислота) и высокосulfатированные. К высокосulfатированным ГАГ относят молекулы хондроитинсulfата (ХС) и гепарансulfата (ГС). Несulfатированные ГАГ играют важную роль в поддержании гомеостаза ВКМ, в то время как высокосulfатированные ГАГ отвечают за взаимодействие «клетка — клетка» и «клетка — матрикс», основные сигнальные каскады, структурную организацию ВКМ, а также за функции клеток, такие как адгезия, миграция, пролиферация [3]. Существует довольно мало информации об эффекте DXM на ПГ и ГАГ в нормальной ткани головного мозга. Введение DXM мышам линии C57Bl/6 в течение 7 суток приводит к снижению экспрессии корового белка агрина в коре головного мозга мышей, которые получали DXM [4]. В другой работе было показано влияние DXM на экспрессию некоторых коровых белков ПГ и содержание молекул ГС и ХС в органотипической культуре срезов головного мозга крыс *ex vivo* и экспериментальных животных *in vivo* [5]. Кроме того, в нашей предыдущей работе было показано, что даже однократное введение DXM способно изменять состав и структуру ВКМ [6]. Однако пролонгированные эффекты хронического введения DXM на компоненты ВКМ нормальной ткани головного мозга до сих пор слабо изучены.

Целью этого исследования было изучить влияние многократного (дозировки 1 и 2,5 мг/кг) отсроченного (15–90 суток) введения DXM на экспрессию коровых белков ПГ (15 генов), ферментов биосинтеза ГС (13 генов),

\* Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 21-15-00285).

глюкокортикоидного рецептора GR и уровень содержания углеводных цепей ГАГ в нормальной ткани головного мозга мышей.

Мышам линии C57Bl/6 многократно (10 суток) вводили DXM в дозировке 1 и 2,5 мг/кг. Сроки выведения животных из эксперимента составляли 15, 30, 60 и 90 суток. Уровень экспрессии коровых белков ПГ, ферментов биосинтеза ГС и GR оценивали методом ОТ-ПЦР в реальном времени. Уровень содержания белка GR оценивали методом вестерн-блот. Уровень содержания общих и высокосульфатированных молекул ГАГ определяли методом окраски альциановым синим с различным pH (pH = 1,0 и pH = 2,5, соответственно). Уровень содержания молекул ХС и ГС оценивали методом дот-блот.

Уровень экспрессии изучаемых коровых белков ПГ (*Syndecan-1*, *Syndecan-3*, *Glypican-1*, *Perlecan*, *Decorin*, *Biglycan*, *Lumican*, *Brevican*, *Neurocan*, *Aggrecan*, *Versican*, *NG2*, *Cspg5*, *CD44*, *Ptprz1*) в нормальной ткани головного мозга мышей не изменялся после многократного введения DXM.

Общая транскрипционная активность генов системы биосинтеза ГС (*Ext1*, *Ext2*, *Ndst1*, *Ndst2*, *Glce*, *Hs2St1*, *Hs3St1*, *Hs3St2*, *Hs6St1*, *Hs6St2*, *Sulf1*, *Sulf2*, *Hpse*) повышалась к 15 суткам, временно снижаясь к 30–60 суткам. Кроме того, уровень экспрессии гена *Hs3St2* повышался в 5 раз ( $p < 0,05$ ) к 60 суткам, а уровень экспрессии гена *Hs6St2* повышался в 6 раз ( $p < 0,05$ ) на 30 сутки после введения DXM.

Уровень мРНК и содержание белковой молекулы GR в нормальной ткани головного мозга не изменялись после многократного введения DXM. Однако было решено провести корреляционный анализ для выявления возможной связи экспрессии GR с экспрессией коровых белков ПГ и ферментов биосинтеза ГС. Корреляционный анализ показал, что нормальная ткань головного мозга характеризуется стойкой корреляцией экспрессии GR и 4 из 14 коровых белков ПГ (коэффициент корреляции Спирмена с уровнем GR  $r = 0,79-0,94$ ;  $p < 0,05$ ), а также 7 из 13 ферментов биосинтеза ГС (коэффициент корреляции Спирмена с уровнем GR  $r = 0,79-0,91$ ;  $p < 0,05$ ). Эти данные являются подтверждением участия GR в регуляции транскрипции генов, вовлеченных в биосинтез ПГ.

Уровень содержания углеводных цепей ГАГ изменялся под воздействием многократного введения DXM, а именно: уровень содержания общих ГАГ повышался в 2 раза ( $p < 0,05$ ), достигая максимальных значений на 30 сутки, при этом уровень содержания высокосульфатированных ГАГ в нормальной ткани головного мозга снижался в 1,5–2 раза ( $p < 0,05$ ) к 30–60 суткам. Этот результат позволяет полагать, что увеличение уровня содержания общих ГАГ в основном происходит за счет нессульфатированных ГАГ (гиалуроновой кислоты). Изученные параметры возвращались к контрольным значениям на 90 сутки, однако наблюдался достаточно значительный период (до 1,5 месяцев) ухудшения состава ВКМ. Тем не менее многократное введение DXM не оказывало статистически значимых изменений на содержание молекул ХС и ГС в нормальной ткани головного мозга мышей.

Таким образом, многократное введение DXM приводит к изменениям в структуре ВКМ нормальной ткани головного мозга мышей, воздействуя на общие и высокосульфатированные ГАГ, а также на некоторые гены ПГ и системы биосинтеза ГС. Эти изменения могут демонстрировать механизм побочных эффектов глюкокортикоидов, который позволит инициировать поиск препаратов для защиты компонентов ВКМ во время и после терапии, либо ослабить это побочное воздействие.

### Литература

1. Theocharis A. D., Skandalis S. S., Gialeli C. et al. Extracellular matrix structure // *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2016. Vol. 97. P. 4–27.
2. Iozzo R. V., Schaefer L. Proteoglycan form and function: a comprehensive nomenclature of proteoglycans // *Matrix Biology*. 2015. Vol. 42. P. 11–55.
3. Karamanos N. K., Theocharis A. D., Pipergkou Z. et al. A guide to the composition and functions of the extracellular matrix // *FEBS Journal*. 2021. Vol. 288. P. 6850–6912.
4. Wei F., Song J., Zhang C. et al. Chronic stress impairs the aquaporin-4-mediated glymphatic transport through glucocorticoid signaling // *Psychopharmacology*. 2019. Vol. 236. P. 1367–1384.
5. Tsidulko A. Y., Bezier C., de La Bourdonnaye G. et al. Conventional anti-glioblastoma chemotherapy affects proteoglycan composition of brain extracellular matrix in rat experimental model *in vivo* // *Frontiers Pharmacology*. 2018. Vol. 2. P. 1104.
6. Аладьев С. Д., Соколов Д. К., Строкотова А. В. и др. Влияние дексаметазона на экспрессию и содержание гликозилированных компонентов в ткани головного мозга мышей // *Успехи молекулярной онкологии*. 2023. Т. 10 (1). С. 25–39.