

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-320

ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЭТАНОЛАМИДА СТЕАРИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ ПРИ ТЕРАПИИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ ЛЕГКОЙ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ**ANTI-INFLAMMATORY EFFECT OF STEARIDONIC ACID ETHANOLAMIDE IN THE TREATMENT OF MILD TRAUMATIC BRAIN INJURY**

А. А. Егораева, И. В. Манжуло, А. И. Пономаренко, Д. Н. Ивашкевич

Национальный научный центр морской биологии им. А. В. Жирмунского ДВО РАН, Владивосток

А. А. Egoraeva, I. V. Manzhulo, A. I. Ponomarenko, D. N. Ivashkevich

Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology FEB RAS, Vladivostok✉ egoraeva.nastya@gmail.com**Аннотация**

Единичные/повторяющиеся легкие черепно-мозговые травмы (лЧМТ) могут способствовать развитию нейродегенеративных заболеваний из-за хронического нейровоспаления. Поэтому необходим поиск новых терапевтических стратегий для лечения лЧМТ. В нашем исследовании *in vitro* и *in vivo* охарактеризовано новое соединение липидной природы, проявляющее противовоспалительную активность.

Abstract

Single/repetitive mTBI may contribute to the development of neurodegenerative diseases due to chronic neuroinflammation. Therefore, the search for new therapeutic strategies for the treatment of mTBI is necessary. Our *in vitro* and *in vivo* study characterized a new lipid compound exhibiting anti-inflammatory and antioxidant activity.

Черепно-мозговая травма (ЧМТ) является одной из ведущих причин смертности и инвалидности во всем мире. Ежегодно регистрируется более 69 млн новых случаев, из них — 80–90 % приходится на лЧМТ. Несмотря на низкую степень тяжести, при лЧМТ формируется нейровоспалительный процесс, который ведет к окислительному стрессу, повреждению аксонов, и, как следствие, могут развиваться острые, подострые и хронические неврологические нарушения. В первую очередь клетками, ответственными за его формирование, является микроглия. Она реагирует в течение нескольких минут и может оставаться в активированном состоянии в течение многих лет после лЧМТ [1]. В связи с этим необходим поиск и разработка лекарственных средств, обладающих противовоспалительным действием.

Многообещающими соединениями являются вещества с липидной природой — этаноламиды полиненасыщенных жирных кислот (N-ацилэтанолламины). Они в несколько десятков раз по эффективности превосходят омега-3 ПНЖК, проявляя противовоспалительную активность, усиливая выработку нейротрофинов и антиоксидантных ферментов [2]. В нашем исследовании впервые был использован этаноламид стеаридоновой кислоты (ЭСК) для оценки его терапевтического потенциала.

Этаноламид стеаридоновой кислоты был получен из пищеварительной железы кальмара *Berryteuthis magister* по методу Латышева [3]. Исследования *in vitro* проводили на линии мышинных микроглиальных клеток — SIM-A9, используя ЭСК в концентрациях 0,1, 1 и 10 мкМ. В качестве индуктора воспалительной реакции использовали липополисахарид (ЛПС) в концентрации 1 мкг/мл. Для выявления цитотоксического действия ЭСК проводили MTS-тест, также оценивали его способность подавлять выработку оксида азота (NO) и активных форм кислорода (АФК). Эксперимент *in vivo* проводили 2,5 месяца на самцах мышей линии C57BL/6, которые поделили на 5 групп: «Контроль», «Контроль + ЭСК», «лЧМТ», «лЧМТ + ЭСК» и «лЧМТ + ЦЕР» (лЧМТ + церебролизин). Этаноламид стеаридоновой кислоты и препарат-сравнение (церебролизин) вводили подкожно в дозах 10 мг/кг и 43 мг/кг, соответственно. Изучаемые вещества вводили за 2 дня до травмы, в день травмы и далее в течение 7 суток. Для моделирования закрытой лЧМТ применялась модель свободного падения груза на череп мыши. Морфологическую структуру коры головного мозга оценивали с помощью окраски гематоксилин-эозином, микроглиальную активность — иммуногистохимическим маркером к *iba-1*. Дополнительно, был проведен анализ коры головного мозга методом вестерн-блот на провоспалительные цитокины (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО α).

В ходе *in vitro* исследований выявлено, что ЭСК не оказывал цитотоксического влияния на культуру клеток. Помимо этого, ЭСК достоверно снижал ЛПС-индуцированную продукцию АФК и NO.

In vivo при изучении аутопсийного материала во всех группах не было выявлено внутримозговых и субдуральных кровоизлияний. Также при морфологическом анализе коры головного мозга не было обнаружено признаков патологии. Тем не менее в ходе иммуногистохимической оценки нейровоспаления были найдены изменения в активации микроглии между контрольными животными и «лЧМТ», «лЧМТ + ЭСК», «лЧМТ + церебролизин». Было установлено, что микроглиальная активность в группе «лЧМТ» достоверно увеличивалась относительно контроля ($p < 0,001$). Применение ЭСК понижало ее активность до уровня группы «Контроль». В то же время введение церебролизина не оказывало влияние на данный показатель, оставаясь на уровне группы «лЧМТ». Анализ методом вестерн-блот продемонстрировал повышение провоспалительных маркеров в корковой зоне при лЧМТ и их понижение после введения ЭСК. При этом введение церебролизина сопровождалось менее выраженным снижением уровня выработки ИЛ-1 β и ИЛ-6, но не ФНО α .

Таким образом, в экспериментах *in vitro* и *in vivo* ЭСК проявлял противовоспалительную активность, ингибируя выработку провоспалительных цитокинов и подавляя активацию микроглии. В связи с этим исследуемое соединение является перспективным веществом для коррекции последствий лЧМТ.

Литература

1. Gardner R. C., Yaffe K. Epidemiology of mild traumatic brain injury and neurodegenerative disease // *Molecular and Cellular Neuroscience*. 2015. Vol. 66 (Pt B). P. 75–80.
2. Tyrtysnaia A., Konovalova S., Ponomarenko A., Egoraeva A., Manzhulo I. Fatty Acid-Derived N-acyl ethanolamines Dietary Supplementation Attenuates Neuroinflammation and Cognitive Impairment in LPS Murine Model // *Nutrients*. 2022. Vol. 14 (18). P. 3879.
3. Latyshev N. A., Ermolenko E. V., Kasyanov S. P. Concentration and purification of polyunsaturated fatty acids from squid liver processing wastes // *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2014. Vol. 116. P. 1608–1613.