

УДК 577.1

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ДИПИКОЛИНОВОЙ КИСЛОТЫ НА УРОВЕНЬ
ТРАНСКРИПТОВ ГЕНОВ *IL6* И *NFKB2* ПРИ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ
ГОЛОВНОГО МОЗГА У КРЫС**

Олеся Михайловна Воронова

студент

bsifr91@gmail.com

Алевтина Александровна Якунина

студент

porovaala212003@gmail.com

Андрей Игоревич Лаврущев

магистрант

klai07@mail.ru

Евгений Дмитриевич Крыльский

кандидат биологических наук

evgenij.krylsky@yandex.ru

Татьяна Николаевна Попова

доктор биологических наук, профессор

porova@bio.vsu.ru

Воронежский государственный университет

г. Воронеж, Россия

Аннотация. В настоящей работе проведено исследование антиоксидантной активности дипиколиновой кислоты в условиях экспериментальной ишемии/реперфузии головного мозга у крыс. Было обнаружено, что после моделирования патологии наблюдалось увеличение уровня мРНК *Il6*, гена кодирующего интерлейкин 6 (*IL-6*), цитокин,

участвующий в иммунном ответе, воспалении и гемопоэзе. IL-6 секретируется различными клетками и оказывает как провоспалительное, так и противовоспалительное действие. Также при патологии активировался *Nfkb2*, ген, кодирующий субъединицу NF-κB, ключевого фактора транскрипции, регулирующего экспрессию генов, связанных с иммунитетом, воспалением и апоптозом. NFκB2 участвует в альтернативном пути активации NF-κB. При введении животным с ишемией/реперфузией головного мозга дипиколиновой кислоты наблюдалось снижение уровня транскриптов генов *IL-6* и *Nfkb2*. Полученные данные позволяют предположить, что дипиколиновая кислота снижала активность воспалительных процессов благодаря наличию антиоксидантной активности.

Ключевые слова: церебральная ишемия/реперфузия, дипиколиновая кислота, *IL-6*, *Nfkb2*.

Ишемия/реперфузия головного мозга (ИРГМ) является одной из наиболее острых медико-социальных проблем последних лет. Обуславливается это высокими показателями распространенности ишемического повреждения головного мозга, инвалидизации пациентов и летальных исходов течения болезни. Нарушение нормального кровоснабжения головного мозга запускает комплекс биохимических изменений, которые в итоге приводят к повреждению его тканей. Ключевыми механизмами повреждения нервных клеток являются: дефицит энергии в условиях повышенной кислотности внутримозговой среды (ацидоза), сбой в поддержании нормального ионного состава клеток и избыточное образование активных форм кислорода, что индуцирует развитие окислительного стресса – состояния, когда собственные антиоксидантные системы не справляются с нейтрализацией агрессивных молекул.

Окислительный стресс характеризуется резким усилением процессов окисления в организме, вызванным ослаблением функции антиоксидантной защиты. Триггером для запуска этой реакции может послужить любое изменение внутренней среды клетки, например, колебание уровня рН или концентрации определенных ионов, что приводит к нарушению баланса между прооксидантами и антиоксидантами и последующей активации окислительных процессов. Окислительный стресс рассматривается как важный фактор, участвующий в развитии нейродегенеративных заболеваний (болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона), а также воспалительных и инфекционных процессов. В это время происходит массивная атака активными формами кислорода на жизненно важные молекулы: белки, нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) и липиды, которая реализуется посредством механизма свободнорадикального окисления, повреждая их структуру и функции.

Нервная ткань отличается повышенной чувствительностью к повреждающему действию свободных радикалов, избыточное образование которых наблюдается при восстановлении кровотока в головном мозге после периода ишемии (реоксигенации). Эта уязвимость обусловлена несколькими

факторами: высокой интенсивностью метаболических процессов, протекающих в нервной ткани, отсутствием значительных энергетических резервов, высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (легко окисляемых липидов) и катализаторов окислительных реакций (в частности, ионов железа и меди) в сочетании с относительно низкой активностью ферментов, обеспечивающих антирадикальную защиту. *Nfkb2* (nuclear factor kappa B subunit 2) — ген, кодирующий субъединицу p100 предшественника ядерного фактора каппа-В (NF-κB). Комплекс NF-κB экспрессируется во многих типах клеток и функционирует как центральный активатор генов, участвующих в воспалении и иммунных функциях. Белок, кодируемый этим геном, может функционировать как активатор или репрессор транскрипции в зависимости от своего партнёра по димеризации

Избыток АФК вызывает повреждение клеточных компонентов, что сопровождается активацией транскрипционного фактора NFκB, индуцирующего синтез провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин 1 бета (IL-1β), интерлейкин 6 (IL-6) [1].

Пиридин-2,6-дикарбоновая кислота (дипиколиновая кислота) активно изучается учеными. Дипиколиновая кислота является уникальным компонентом эндоспор родов *Bacillus* и *Clostridium*, а также продуцируется и секретируется некоторыми штаммами *Penicillium* и некоторыми энтомопатогенными грибами. ДПК и его производные проявляют различную биологическую активность [4].

В силу своей низкой токсичности, амфифильных свойств и широкого спектра биологической активности, дипиколиновая кислота (ДПК) представляет собой многообещающий лиганд для разработки потенциальных фармакологических соединений. ДПК обнаруживается в различных природных системах, являясь продуктом окислительной деградации витаминов, коферментов, алкалоидов и других биомолекул. Кроме того, она является ключевым компонентом фульвокислот, участвует в метаболизме триптофана в

качестве промежуточного звена и служит предшественником никотинамидадениндинуклеотида (НАД) [2].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования является изучение влияния дипиколиновой кислоты на уровень мРНК генов *Iib* и *Nfkb2* в контексте ишемического/реперфузионного повреждения головного мозга.

В качестве экспериментальной модели использовались самцы белых лабораторных крыс линии *Rattus norvegicus* массой 200-250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария при 12-часовом режиме освещения, контролируемой комнатной температуре и неограниченном доступе к воде и пище (*ad libitum*). Все манипуляции с животными проводились в строгом соответствии с этическими нормами, регламентированными Международными правилами гуманного обращения с лабораторными животными и Санитарными правилами по отбору и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Для индукции ишемии/реперфузии головного мозга (ИРГМ) у экспериментальных животных применяли метод 30-минутной окклюзии общих сонных артерий под общей анестезией с последующим восстановлением кровотока. Визуальная оценка восстановления кровоснабжения проводилась на основании изменения цвета и пульсации артерий. Эвтаназию животных осуществляли через 72 часа после моделирования ИРГМ. Образцы крови отбирали путем кардиопункции, а головной мозг извлекали из черепной коробки с использованием стандартной хирургической методики.

В рамках исследования животные были разделены на три группы: 1) контрольная группа (n=10) – ложнооперированные животные, которым проводилась хирургическая процедура без окклюзии сонных артерий; 2) группа ИРГМ (n=10) – животные, подвергнутые моделированию ишемии/реперфузии головного мозга; 3) группа ДПК + ИРГМ (n=10) – животные с ИРГМ, которым осуществляли пероральное введение ДПК в дозе 10 мг/кг в объеме 1 мл физиологического раствора один раз в сутки в течение трех дней, начиная через

три часа после операции. Доза ДПК была выбрана на основании данных, полученных в предыдущих исследованиях, демонстрирующих ее эффективность в аналогичных моделях.

Общую РНК выделяли из лобной коры больших полушарий мозга крыс с использованием реагента ExtractRNA (Eurogen, Россия). Качество выделения РНК контролировали с помощью электрофореза в агарозном геле. Обратную транскрипцию проводили в двух повторах с использованием набора MMLV RT kit (Eurogen, Россия) в соответствии с инструкциями. Количество мРНК каждого гена нормализовали до уровня мРНК *Gapdh* и *Actb*, используемых в качестве генов домашнего хозяйства. ПЦР в реальном времени проводили с использованием qPCRmix-HS SYBR (Eurogen, Россия) с прибором CFX Connect Real-time PCR detection system (Bio-Rad, США). Анализ результатов был проведен с использованием метода $2^{-\Delta\Delta Ct}$. Специфичность реакции оценивали на основе кривых плавления.

Полученные результаты анализировали с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверными считали различия при $p < 0,05$ [5].

Индукция ишемии-реперфузии (ИРМГ) сопровождалась подъемом уровня транскриптов гена *IL-6* в 1,5 раза относительно контрольной группы, что сигнализирует об активации каскада воспалительных реакций. Введение дипиколиновой кислоты (ДПК) крысам с ИРМГ повлекло за собой редукцию уровня транскриптов гена *IL-6* в 1,2 раза относительно группы с патологией, указывая на ее противовоспалительные свойства.

Параллельно, при ИРМГ отмечался подъем уровня транскриптов гена *Nfkb2* в 2,3 раза в сравнении с контрольной группой, что является отражением активации сигнального пути NF-κB, вовлеченного в процессы воспаления и апоптоза. Полученные данные свидетельствуют о том, что дипиколиновая кислота (ДПК) оказывает выраженное противовоспалительное действие при ишемии-реперфузии головного мозга. В частности, использование ДПК привело к значительному снижению – в 6,3 раза – уровня транскриптов гена

Nfkb2 по сравнению с животными, у которых была индуцирована ИРМГ. Стоит отметить, что наблюдаемое повышение экспрессии генов *Nfkb2* и *IL-6* в условиях патологии, по-видимому, отражает активацию компенсаторных процессов, представляющих собой воспалительный ответ на повреждение тканей, за счет которого организм пытается справиться с последствиями ишемии. Снижение транскриптов при введении дипиколиновой кислоты говорит о снижении интенсивности воспалительных процессов. Являясь сильным комплексообразователем, ДПК является мощным металл-хелатором, который ингибирует перекисное окисление липидов. Структурная комбинация ядра ДПК с другими гетероциклическими соединениями уже зарекомендовала себя как отличный инструмент с антимикробной и антиоксидантной активностью. Также можно отметить, что ДПК образует комплекс с ионами кальция. Этот комплекс защищает ДНК от тепловой денатурации, вставляясь между нуклеиновыми основаниями, тем самым повышая стабильность ДНК [3].

Таким образом, полученные нами результаты подтверждают противовоспалительную активность у дипиколиновой кислоты при моделировании ИРГМ у крыс.

Список литературы:

1. 1-benzoyl-6-hydroxy-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline exerts a neuroprotective effect and normalises redox homeostasis in a rat model of cerebral ischemia/reperfusion / Kryl'skii E. D. et al. // *Metabolic brain disease*. 2022. V. 37. № 4.
2. Celestine M. J. et al. Interesting properties of p-, d-, and f-block elements when coordinated with dipicolinic acid and its derivatives as ligands: their use as inorganic pharmaceuticals // *Reviews in Inorganic Chemistry*. 2015. T. 35. №. 2. С. 57-67.
3. Dipicolinic acid prevents the copper-dependent oxidation of low-density lipoprotein / Murakami K. et al. // *J Nutr Biochem*. 2013. V. 14. P. 99 – 103.

4. Mono- and bis-dipicolinic acid heterocyclic derivatives – thiosemicarbazides, triazoles, oxadiazoles and thiazolidinones as antifungal and antioxidant agents / M. Molnar et al. // *Heterocyclic Communications*. 2016. V. 23. № 1. P. 35-42.

5. Калаева Е. А., Артюхов В. Г., Калаев В. Г. Теоретические основы и практическое применение математической статистики в биологических исследованиях и образовании // Воронеж: Издательский дом ВГУ. 2016. 283 с.

UDC 577.1

EFFECT OF DIPICOLINIC ACID ON THE LEVEL OF *IL6* AND *NFKB2* GENE TRANSCRIPTS IN RAT BRAIN ISCHEMIA/REPERFUSION

Olesya M. Voronova

student

bsifr91@gmail.com

Alevtina Al. Yakunina

student

popovaala212003@gmail.com

Andrey Ig. Lavrushchev

master's student

klai07@mail.ru

Evgeny D. Krylsky

candidate of biological sciences

evgenij.krylsky@yandex.ru

Tatiana N. Popova

doctor of biological sciences, professor

popova@bio.vsu.ru

Voronezh State University

Voronezh, Russia

Abstract. Cerebral ischemia is a complex pathological process that develops under conditions of oxygen starvation of the tissue and is associated with the formation of acute neuronal energy deficiency and, as a result, the development of irreversible damage in the nervous tissue of the brain. Reperfusion, that is, the restoration of blood supply after an ischemic period, can lead to deterioration of metabolic disorders in the brain and the formation of reperfusion injury. In this work, the antioxidant activity of dipicolinic acid was studied in experimental ischemia/reperfusion of the brain in rats. It was found that after modeling the pathology, an increase in the level of IL-6 and Nfkb2 mRNAs was observed, which indicates the development of inflammation in the nervous tissue. When dipicolinic acid was administered to animals with cerebral ischemia/reperfusion, a decrease in the level of IL-6 and Nfkb2 gene transcripts was observed. The data obtained suggest that dipicolinic acid reduced the degree of damage to neurons due to the presence of antioxidant activity.

Key words: cerebral ischemia/reperfusion, dipicolinic acid, *IL-6*, *Nfkb2*.

Статья поступила в редакцию 20.03.2025; одобрена после рецензирования 20.06.2025; принята к публикации 30.06.2025.

The article was submitted 20.03.2025; approved after reviewing 20.06.2025; accepted for publication 30.06.2025.