

## Роль паннексина 1 в провоспалительной активации астроцитов

Научный руководитель – Горбачева Любовь Руфэлевна

*Мазеева Валерия Владимировна*

*Студент (магистр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра физиологии человека и животных, Москва, Россия

*E-mail: mазеева\_valeria@mail.ru*

Нейровоспаление, как неотъемлемая часть нейродегенеративного процесса, может быть универсальной мишенью для лечения ряда заболеваний центральной нервной системы. Высокая реактивность астроцитов и их вовлеченность в патологические процессы предполагают возможность регуляции их функций с целью коррекции повреждений мозга и купирования воспалительных процессов [1]. Накопленные данные свидетельствуют о том, что повреждение тканей (в том числе и тканей головного мозга) сопровождается активацией каналов, образованных белками-паннексинами (Panx1) [2]. Однако участие Panx1 в регуляции нейровоспаления не до конца изучено. В связи с этим, целью данного исследования было выявить роль паннексина-1 в активации астроцитов на фоне действия провоспалительных факторов *in vitro*.

Все эксперименты проводились на первичных культурах астроцитов, полученных из кортекса новорожденных мышей с нокаутом Panx1 и мышей дикого типа (линии C57Black/6) - с полноценной экспрессией этого гена. Астроциты культивировали в течение 12 дней при 37°C в 5% атмосфере CO<sub>2</sub>, после чего осуществляли замену культуральной среды на бессывороточную на 3 часа с последующим добавлением в среду исследуемых провоспалительных факторов: тромбина в концентрациях 1-100 нМ, бензоилАТФ в концентрациях 100-500 мМ и липополисахарида в концентрации 0,1-5 мкг/мл. Через 6, 24 и 48 часов после воздействия осуществляли оценку уровня интерлейкина-6 (ИЛ-6), секреции оксида азота (NO) и бета-гексозаминидазы (БГА) культивируемыми астроцитами, а также их уровень пролиферации. Определение уровня интерлейкина-6 проведено с помощью иммуноферментного метода (*ELISA*). Пролиферацию оценивали с использованием реактива WST-1, продукцию NO - с помощью реактива Грисса, секрецию БГА методом Шварца. Все данные были обработаны в программе Graph Pad Prism8.

В ходе исследования установлено, что тромбин в высоких концентрациях (>50нМ) демонстрирует отставленный воспалительный эффект в первичной культуре астроцитов вызывая повышение уровня пролиферации и секреции оксида азота и бета-гексозаминидазы. Кроме того, нокаут гена Panx1 на фоне действия 1—нМ тромбина и 1 мкг/мл ЛПС снижал секрецию БГА астроцитами более чем на 25% по сравнению с диким типом. Инкубация астроцитов с бензоилАТФ не оказывала влияния на пролиферации клеток и уровень секреции NO, БГА в обеих группах астроцитов. Проведенный иммуноферментный анализ выявил, что секреция интерлейкина-6 первичной культурой астроцитов зависит от наличия белка паннексина-1. Нокаут гена Panx1 приводит к снижению уровня ИЛ-6 на фоне действия высоких концентраций тромбина и ЛПС по сравнению с диким типом.

Таким образом, установлено, что провоспалительный ответ культивируемых астроцитов мыши на тромбин и эндотоксин, но не на АТФ, зависит от наличия белка Panx1. Дальнейшее исследование молекулярного механизма участия Panx1 в провоспалительных реакциях астроцитов обеспечит разработку нового направления терапии нейровоспаления на основе паннексина1 в качестве фармакологической мишени.

### Источники и литература

- 1) Yeung A.K., Patil C.S., Jackson M.F., 2020. Pannexin-1 in the CNS: Emerging concepts in health and disease. //J Neurochem. V. 154(5). P. 468-485.
- 2) Penuela S., Gehi R., Laird D.W., 2013. The biochemistry and function of pannexin channels // Biochim. Biophys. Acta. V. 1828. P. 15–22.