

## ВЛИЯНИЕ НАПРАВЛЕННОЙ ПОЛЯРИЗАЦИИ МИКРОГЛИИ С ПОМОЩЬЮ МАЛЫХ ИНТЕРФЕРИРУЮЩИХ РНК НА РАЗВИТИЕ БОКОВОГО АМИОТРОФИЧЕСКОГО СКЛЕРОЗА

Кудряшова Н.И.<sup>1</sup>, Шашковская В.С.<sup>1,2</sup>, Микаелян А.С.<sup>3</sup>,  
Дейкин А.В.<sup>4</sup>, Котелевцев Ю.В.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Центр нейробиологии и реабилитации мозга им. В.Л. Зельмана. Сколковский институт наук  
и технологий, Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский научно-исследовательский медицинский институт им. Н.И. Пирогова,  
Москва, Россия

<sup>3</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова, Москва, Россия

<sup>4</sup>Белгородский государственный национальный исследовательский университет,  
Белгород, Россия

*[Natalia.Kudriashova@skoltech.ru](mailto:Natalia.Kudriashova@skoltech.ru)*

Боковой амиотрофический склероз (БАС) является нейродегенеративным заболеванием, характеризующимся поражением двигательных нейронов головного и спинного мозга. Микроглия представляет собой резидентные макрофаги центральной нервной системы (ЦНС), которые действуют как первая и основная форма активной иммунной защиты. Активация микроглии играет ключевую роль в нейровоспалении, участвующем в патогенезе БАС. Активированная микроглия существует в двух фенотипах: М1 (провоспалительный) и М2 (антивоспалительный). Регуляторный фактор интерферона 5 (ИРФ5) и толл-подобный рецептор 4 (ТЛР4) отвечают за формирование воспаления в ЦНС и являются терапевтическими мишенями в развитии БАС. Малые интерферирующие РНК (миРНК) представляют собой короткие двухцепочечные РНК, способные подавлять экспрессию выбранных генов.

Целью данной работы является оценка влияния миРНК к генам ИРФ5 и ТЛР4 на направленную поляризацию микроглии из М1 в М2 фенотип.

В данной работе использовались миРНК к следующим генам: ИРФ5 и ТЛР4. Первичная культура микроглии, выделенная из новорожденных мышей, была трансфицирована миРНК, затем поляризована в М1 фенотип липополисахаридом (ЛПС) (100 нг/мл) и интерлейкином-4 (ИЛ-4) (20 нг/мл) в М2 фенотип. Через 72 часа после трансфекции было оценено изменение фенотипа микроглии с помощью полимеразной цепной реакцией в реальном времени. Для проведения экспериментов *in vivo* было осуществлено внутрижелудочковое введение липидных наночастиц, содержащих миРНК к ИРФ5 и к люциферазе светлячка, в течение 5 дней трансгенной линии мышей FUS (1-359). Для оценки терапевтического эффекта проводилась гистологическая окраска срезов спинного мозга гематоксилином/эозином.

В ходе работы было показано подавление генов ИРФ-5 и ТЛР4 через 72 часа после трансфекции на 75% в М0, М1 и М2 микроглие. Результаты показали, что трансфекция с помощью миРНК к ИРФ-5 снижает экспрессию маркеров М1 поляризации TNF-а и IFN-γ в М1 фенотипе микроглии на 95% и 50% соответственно и повышает экспрессию маркера М2 поляризации Arg в М2 фенотипе на 90%. Подавление ТЛР4 с помощью миРНК способствует снижению экспрессии маркеров М1 поляризации TNF-а и IL6 на 90% в М1 фенотипе. Внутрижелудочковое введение липидных наночастиц, содержащих миРНК к ИРФ5 способствовало снижению нейровоспаления у трансгенной линии мышей по сравнению с контролем.

Таким образом, нами было показано, что миРНК к генам ИРФ5 и ТЛР4 способны влиять на поляризацию микроглии, изменяя ее фенотип и снижая тем самым выраженность воспаления.