

Активация лактатных рецепторов GPR81 стимулирует митохондриальный биогенез в клетках эндотелия церебральных микрососудов

Е.Д. Хилажева, Н.В. Писарева, А.В. Моргун, Е.Б. Бойцова, Т.Е. Таранушенко, О.В. Фролова, А.Б. Салмина

Научно-исследовательский институт молекулярной медицины и патобиохимии
ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого», Красноярск, Россия

Введение. Клетки церебрального эндотелия экспрессируют монокарбоксилатные транспортеры MCT1 для переноса лактата через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), регулируемые активностью CD147, а также рецепторы лактата GPR81 (HCAR1). Метаболизм и межклеточный транспорт лактата – важный механизм регуляции функциональной активности клеток ГЭБ.

Цель исследования. Изучить влияние активности GPR81 рецепторов в клетках церебрального эндотелия на экспрессию MCT1, CD147 и митохондриальную динамику, что позволит объяснить эффект локальной продукции лактата периваскулярными астроцитами на процессы ангиогенеза в ткани головного мозга.

Материалы и методы. В работе использовалась культура клеток церебральных эндотелиоцитов, выделенных из головного мозга 15–17-дневных эмбрионов крыс линии Wistar. Изучение митохондриального биогенеза церебральных эндотелиоцитов проводили по стандартному протоколу «MitoBiogenesis In-Cell ELISA Kit» (Abcam). Химическую гипоксию создавали путем инкубации в присутствии 50 мкМ йодацетата в течение 30 мин. В качестве агониста рецепторов лактата GPR81 использовали 3Cl-5OH-BA (Calbiochem) в концентрации 5, 50 и 500 мкМ в течение 24 час. Количество клеток, экспрессирующих молекулы GPR81, CD147 и MCT1, оценивали с использованием двойного непрямого метода иммуноферментного окрашивания.

Результаты. Впервые обнаружено, что длительная стимуляция GPR81 рецепторов 3Cl-5OH-BA в дозозависимой манере приводит к интенсификации митохондриального биогенеза (до 1,5 раз, $p < 0,05$). В то же время зафиксировано статистически значимое ($p < 0,05$) подавление экспрессии монокарбоксилатных транспортеров MCT1 в опытной группе по сравнению с контрольной (с $81 \pm 1,6\%$ до $40,7 \pm 4,4\%$) и сопряженного с ними белка CD147 (с $57,4 \pm 3,3\%$ до $48,3 \pm 2,9\%$) в церебральных эндотелиоцитах.

Заключение. Полученные данные расширяют спектр возможных приложений действия агонистов GPR81 для модуляции межклеточных взаимодействий в нейроваскулярной единице и контроля функциональной активности клеток эндотелия церебральных микрососудов.

Ключевые слова: церебральный эндотелий, гематоэнцефалический барьер, митохондрии, лактатные рецепторы, гликолиз.

Activation of GPR81 lactate receptors stimulates mitochondrial biogenesis in cerebral microvessel endothelial cells

Elena D. Khilazheva, Natalya V. Pisareva, Andrey V. Morgun, Elizaveta B. Boitsova, Tatyana E. Taranushenko, Olga V. Frolova, Alla B. Salmina

Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, V.F. Voino-Yasenskii Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

Introduction. Cerebral endothelial cells express monocarboxylate transporters MCT1 for blood–brain barrier (BBB) transfer of lactate, which are regulated by CD147 activity, as well as lactate receptors GPR81 (HCAR1). Metabolism and intercellular transport of lactate is the crucial mechanism for regulating the function of BBB cells.

Objective. To study the effect of activity of GPR81 receptors in cerebral endothelial cells on expression of MCT1, CD147 and the mitochondrial dynamics, which will make it possible to explain the effect of local production of lactate by perivascular astrocytes on angiogenesis in the cerebral tissue.

Materials and methods. The culture of cerebral endothelial cells isolated from the brain of 15–17-day-old Wistar rat embryos was used in this study. Mitochondrial biogenesis of cerebral endothelial cells was studied using the standard MitoBiogenesis In-Cell ELISA Kit protocol (Abcam). Chemical hypoxia was induced by incubation in the presence of 50 μM iodoacetate for 30 min. 3Cl-5OH-BA (Calbiochem) at concentrations of 5, 50, and 500 μM was used as an agonist of GPR81 lactate receptors during 24 h. The number of cells expressing GPR81, CD147, and MCT1 molecules was evaluated using indirect double-antibody ELISA.

Results. It was found for the first time that prolonged dose-dependent stimulation of GPR81 receptors with 3Cl-5OH-BA intensifies mitochondrial biogenesis (up to 1.5-fold, $p < 0,05$). Meanwhile, a statistically significant ($p < 0,05$) inhibition of expression of monocarboxylate transporters MCT1 (from $81 \pm 1,6\%$ to $40,7 \pm 4,4\%$) and the conjugated CD147 protein (from $57,4 \pm 3,3\%$ to $48,3 \pm 2,9\%$) in cerebral endothelial cells in the study group compared to the control group.

Conclusions. *The findings broaden the range of potential applications of GPR81 agonists for modulating intercellular interactions in a neurovascular unit and controlling the functional activity of cerebral microvessel endothelial cells.*

Keywords: *cerebral endothelium, brain–blood barrier, mitochondria, lactate receptors, glycolysis.*

Введение

Повреждение гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) – одно из важных проявлений широкого круга неврологических заболеваний, имеющее своим результатом нарушение механизмов транспорта метаболитов и регуляторных молекул. С другой стороны, избирательная проницаемость ГЭБ является препятствием для применения ряда лекарственных средств, не способных преодолеть барьер, что снижает эффективность терапии заболеваний центральной нервной системы. В состав ГЭБ входят клетки эндотелия, периваскулярная астроглия, перициты, кроме того, существенное влияние на поддержание структурно-функциональной целостности ГЭБ могут оказывать нейроны и микроглия.

Эндотелий церебральных микрососудов, обеспечивающий барьерную функцию, обладает рядом уникальных характеристик, отличающих его от эндотелиальных клеток в других тканях: экспрессия белков плотных контактов (клаудины, окклюдина и др.), транспортных молекул (транспортеры глюкозы, лактата, бета-амилоида и др.), рецепторов инсулина и трансферрина, а также присутствие в клетках большего количества митохондрий [1]. Высокое содержание митохондрий в клетках эндотелия ГЭБ обусловлено энергетическими потребностями транспортирующих систем, а также интенсивностью механизмов ангиогенеза, который в головном мозге связан не только с процессами развития и восстановления после повреждения ткани, но и с нейропластичностью [2].

Особенности энергетического метаболизма клеток церебрального эндотелия состоят в интенсивном базальном уровне гликолиза, интенсификации гликолиза и митохондриального дыхания при индукции васкулогенеза и ангиогенеза [3]. Для предотвращения неблагоприятных эффектов гиперстимуляции митохондриальной активности клетки эндотелия обладают специализированными механизмами, в частности, они экспрессируют немитохондриальную пренилтрансферазу UBIAD1, синтезирующую убихинон CoQ10, участвующий в митохондриальном дыхании и защите от окислительного стресса [4], однако насколько этот процесс актуален для клеток церебрального эндотелия остается не выясненным.

Примечательно, что в определенном смысле метаболизм клеток эндотелия может быть сравнен с метаболизмом клеток опухолевой природы, характеризующихся так называемым эффектом Варбурга (высокий базальный уровень продукции лактата) [5], однако относительно высокий уровень митохондрий именно в клетках церебрального эндотелия делает эту субпопуляцию эндотелиоцитов в большей степени зависящей не от гликолиза, а от окислительного фосфорилирования в митохондриях. Действительно, в ткани головного мозга основными продуцентами лактата являются астроциты [6], что необходимо для реализации нейронастроглиального метаболического сопряжения и, вероятно, для координации метаболизма церебральных эндотелиоцитов и периваскулярной астроглии. Вместе с тем значительное количество лактата может находиться и в системной циркуляции, что может иметь своим результатом модуля-

цию функциональной активности клеток эндотелия в составе ГЭБ. В таком случае клетки церебрального эндотелия становятся с большей вероятностью объектом для реализации так называемого обратного эффекта Варбурга, впервые описанного для взаимодействия опухолевых и стромальных клеток [7]: клетки эндотелия утилизируют лактат, который обеспечивает стимуляцию цикла трикарбоновых кислот и митохондриальной продукции АТФ, что может быть необходимым для формирования локального микроокружения, оптимального для процессов ангиогенеза или высокой нейрональной активности и нейропластичности.

Митохондриальный биогенез – одно из проявлений митохондриальной динамики (наряду с процессами митофагии), которое необходимо для быстрой адаптации клеточного дыхания к изменяющимся локальным потребностям в энергопродукции. Основными стимуляторами митохондриального биогенеза в клетках различной природы являются PGC-1 (ко-активатор 1 α рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом) и AMPK (АМФ-активируемая протеинкиназа) [8], а ингибитором – транскрипционный фактор HIF-1 (индуцируемый гипоксией фактор 1) [9].

Церебральные эндотелиальные клетки экспрессируют монокарбоксилатные транспортеры MCT1 для транспорта лактата через ГЭБ, регулируемые активностью CD147 [10], а также рецепторы лактата GPR81 (HCAR1), функция которых в центральной нервной системе практически не изучена [11]. Особенности экспрессии MCT1 и GPR81 в клетках церебрального эндотелия, вероятнее всего, позволяют им реагировать на присутствие лактата как в просвете церебрального сосуда, так и в межклеточном пространстве, в частности, в участках тесного прилегания отростков периваскулярных астроцитов к клеткам эндотелия [12]. Ранее мы показали [2], что метаболизм и межклеточный транспорт лактата – важный механизм регуляции функциональной активности клеток ГЭБ. В настоящей работе мы предположили, что стимуляция GPR81 рецепторов в клетках церебрального эндотелия может иметь своим результатом изменение экспрессии MCT1 и CD147, а также митохондриальную динамику, что позволит объяснить влияние локальной продукции лактата периваскулярными астроцитами на процессы ангиогенеза в ткани головного мозга.

Материалы и методы

В работе использовалась культура клеток церебральных эндотелиоцитов, выделенных из головного мозга 15–17-дневных эмбрионов крыс линии Wistar по разработанному ранее протоколу [13]. Основной средой для культивирования эндотелиоцитов являлась Endothelial Cell Culture Medium, состоящая из ECM (endothelial culture medium, ScienCell, США), FBS (fetal bovine serum, ScienCell, США), ECGS (endothelial cell growth supplement, ScienCell, США) и раствор антибиотика-антимикотика (Thermo Scientific HyClone, США).

Изучение митохондриального биогенеза церебральных эндотелиоцитов проводили по стандартному протоколу

«MitoBiogenesis In-Cell ELISA Kit» (Abcam, США). В эксперименте использовали интактные эндотелиоциты и эндотелиоциты, подвергнутые химической гипоксии путем инкубации в присутствии 50 мкМ йодацетата в течение 30 мин. Далее каждая из экспериментальных групп была разделена на 4 подгруппы: 1) культивирование в основной среде с добавлением растворителя диметилсульфоксида в количестве 1 мкл/мл среды (DMCO, Sigma-Aldrich, США); 2) культивирование в среде, содержащей 5 мкМ 3CI-5OH-BA (агонист рецепторов лактата GPR81, Calbiochem, США); 3) культивирование в среде, содержащей 50 мкМ 3CI-5OH-BA; 4) культивирование в среде, содержащей 500 мкМ 3CI-5OH-BA. В каждой экспериментальной группе было выполнено 8 повторов.

Через 24 часа инкубации клеток с модулятором оценивали относительное количество митохондриальных белков – сукцинатдегидрогеназы А (SDH-A) и цитохром с-оксидазы-1 (COX-1) в каждой лунке по стандартному протоколу фирмы-изготовителя. Так же определяли соотношение экспрессии COX-1 к SDH-A. COX-1 кодируется митохондриальной ДНК, в то время как SDH-A кодируется ядерной ДНК. Таким образом, соотношение COX-1/SDH-A представляет состояние митохондриально-го биогенеза.

Кроме того, в культуре интактных церебральных эндотелиоцитов после 24-часовой инкубации в присутствии 50 мкМ 3CI-5OH-BA оценивали экспрессию рецепторов лактата GPR81, CD147 и монокарбоксилатного транспортера MCT1. Количество клеток, экспрессирующих данные молекулы, оценивали с использованием двойного непрямого метода иммуноферментного окрашивания согласно протоколу производителя с использованием первичных антител к FW, GPR81, CD147, MCT1 (все антитела – Abcam, США) в рабочем разведении 1:100. В качестве вторичных использовали моноклональные антитела, меченные AlexaFluor 488 и AlexaFluor 555 (Abcam, США) в рабочем разведении 1:200.

Визуализацию результатов окрашивания осуществляли с помощью автоматизированного конфокального лазерного сканирующего микроскопа с водной иммерсией Olympus FV10i-W (Olympus, Япония). При анализе фотоснимков использовали программу Olympus FLUOVIEW Viewer 4.0 (Olympus, Япония).

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием методов непараметрической статистики. Для выявления различий между экспериментальными группами применяли критерий Манна–Уитни и критерий хи-квадрат. Результаты иммуноцитохимического анализа представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартное отклонение. Результаты иммуноферментного анализа представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее значение, m – стандартное отклонение. Статистически значимыми считали различия при $p \leq 0,05$.

Результаты

При оценке влияния 3CI-5OH-BA как агониста лактатных рецепторов GPR81 на экспрессию субъединицы I комплекса IV дыхательной цепи митохондрий (COX-1), которая кодируется митохондриальной ДНК, и субъединицу с молекулярной массой 70 кДа комплекса II дыхательной цепи митохондрий (SDH-A), которая кодируется ядерной

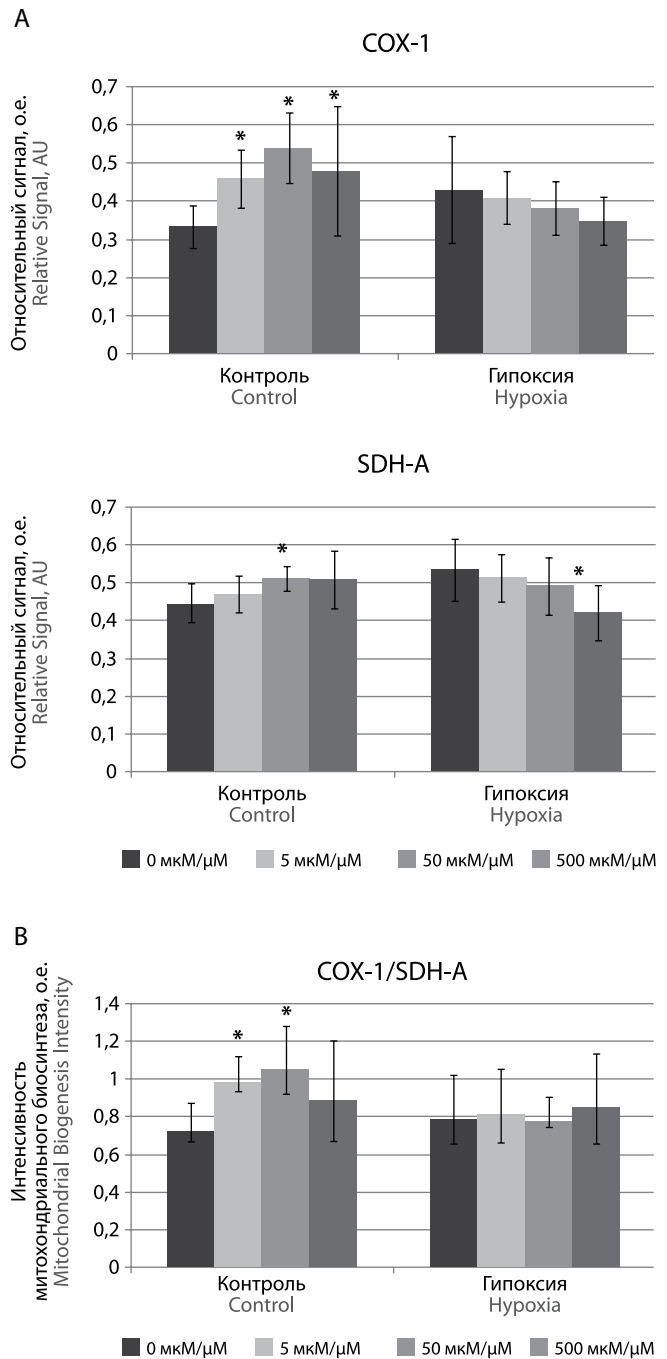


Рис. 1. Изменение экспрессии ферментов дыхательной цепи митохондрий SDH-A и COX-1 в клетках церебрального эндотелия крыс, инкубированных в течение 24 час с агонистом GPR81-рецепторов 3CI-5OH-BA (5, 50, 500 мкМ) в условиях нормоксии и «химической гипоксии», индуцированной 50 мкМ йодацетата *in vitro*. А – экспрессия COX-1 и SDH-A (по оси ординат – оптическая плотность образца, отн. ед.); В – интенсивность митохондриального биогенеза (отн. ед.)
* – уровень значимости между группами $p < 0,05$

Fig. 1. Changes in expression of mitochondrial respiratory chain enzymes SDH-A and COX-1 in rat cerebral endothelial cells incubated for 24 h with the GPR81 receptor agonist 3CI-5OH-BA (5, 50, and 500 μm) under normoxia and chemically induced hypoxia caused by administration of 50 μm of iodoacetate *in vitro*. (A) Expression of COX-1 and SDH-A (absorbance of the sample, rel. units plotted along the Y axis); (B) Intensity of mitochondrial biogenesis (rel. units)
* – the intergroup significance level, $p < 0.05$

ДНК, мы обнаружили, что длительная (24 час) стимуляция лактатных рецепторов имеет своим результатом достоверно значимое и дозозависимое увеличение экспрессии COX-I в церебральных эндотелиоцитах, находящихся в состоянии нормоксии. Так, при культивировании клеток в присутствии 5 мкМ 3CI-5OH-BA показатели экспрессии COX-I возросли с 0,33 о.е. в контроле до 0,46 о.е. ($p < 0,05$), а при инкубации в присутствии 50 мкМ 3CI-5OH-BA – до 0,54 о.е. ($p < 0,05$). Однако индукция «химической гипоксии» пред-инкубацией клеток с 50 мкМ йодоацетата нивелировала эффект 3CI-5OH-BA в отношении экспрессии COX-I. Экспрессия SDH-A под действием агониста GPR81 рецепторов практически не менялась ни в условиях нормоксии, ни при гипоксии, что свидетельствует о достоверном увеличении интегрального показателя митохондриального биогенеза в клетках-мишенях (оцениваемого как отношение экспрес-

сии COX-I к SDH-A) в диапазоне концентраций 5–50 мкМ, но только в условиях сохранного гликолиза (рис. 1).

Стимуляция GPR81 рецепторов в течение 24 час не привела к изменению экспрессии лактатных рецепторов в клетках церебрального эндотелия, инкубированных в состоянии без индуцированной гипоксии, однако экспрессия монокарбоксилатных транспортеров MCT1 и сопряженного с ними белка шаперонной активностью CD147 достоверно уменьшилась (табл. 1, рис. 2).

Обсуждение

Обнаруженный нами стимулирующий эффект агониста GPR81 рецепторов в отношении процессов митохондриального биогенеза на фоне подавления экспрессии транспортеров лактата в клетках эндотелия церебральных микрососудов свидетельствует о том, что пребывание клеток эндотелия в условиях среды, насыщенной лактатом, приводит к снижению интенсивности транспорта лактата через ГЭБ с учетом того, что MCT1 обеспечивает как захват, так и высвобождение лактата из клеток, что определяется энергетическими потребностями клетки [14]. Другими регуляторными механизмами, контролирующими экспрессию MCT1 в клетках эндотелия, являются сохранность микротрубочек цитоскелета, уровень внутриклеточного pH и цАМФ-зависимые механизмы интернализации [15, 16]. Именно в отношении последнего из перечисленных механизмов проявляют свои эффекты активированные GPR81 рецепторы в ткани головного мозга [12].

С другой стороны, CD147 контролирует экспрессию MCT1, выступая в качестве шаперона и обеспечивая функциональную активность транспортера в мембране клеток эндотелия [17]. Существуют единичные наблюдения значимости экспрессии CD147 в клетках церебрального эндотелия для поддержания структурно-функциональной целостности ГЭБ [18], а лиганд CD147 – циклофилин А – рассматривается в настоящее время в качестве одной из мишеней в экспериментальной фармакотерапии гипоксически-ишемического повреждения головного мозга [19].

Интересно, что эффект стимуляции GPR81, проявляющийся активацией митохондриального биогенеза, мы наблюдали только в условиях нормоксии, но не гипоксического состояния в клетках эндотелия. Известно, что йодоацетат индуцирует так называемую «химическую гипоксию», связанную с подавлением гликолиза и соответствующим снижением продукции лактата в клетках [20]. Иными словами, в клетках эндотелия с нарушенной гликолитической продукцией лактата увеличения митохондриальной массы при стимуляции GPR81 не происходит. Логично предположить, что сохранность гликолиза и базальный уровень продукции лактата необходимы для активности GPR81 и/или индукции экспрессии митохондриальной ДНК в клетках церебрального эндотелия.

Интенсификация митохондриального биогенеза в клетках церебрального эндотелия при стимуляции лактатных рецепторов на фоне подавления экспрессии MCT1 может свидетельствовать о том, что пребывание эндотелиоцитов в богатом лактатом микроокружении является сигналом к подавлению собственного гликолиза и стимуляции митохондриального дыхания. Такая метаболическая перестройка в клетках церебральных микрососудов, вероятно, актуальна

Таблица 1. Экспрессия GPR81, MCT1 и CD147 в клетках эндотелия церебральных микрососудов крыс *in vitro* при инкубации с агонистом GPR81 рецепторов лактата

	Количество GPR81(+) Fw(+) клеток, %	Количество MCT1(+) Fw(+) клеток, %	Количество CD147(+) Fw(+) клеток, %
Контроль	32,9±3,9	81,0±1,6	57,4±3,3
3CI-5OH-BA, 50 мкМ, 24 час	40,0±4,0	40,7±4,4*	48,3±2,9*

Примечание: * – уровень значимости между группами $p < 0,05$; критерий χ^2 .

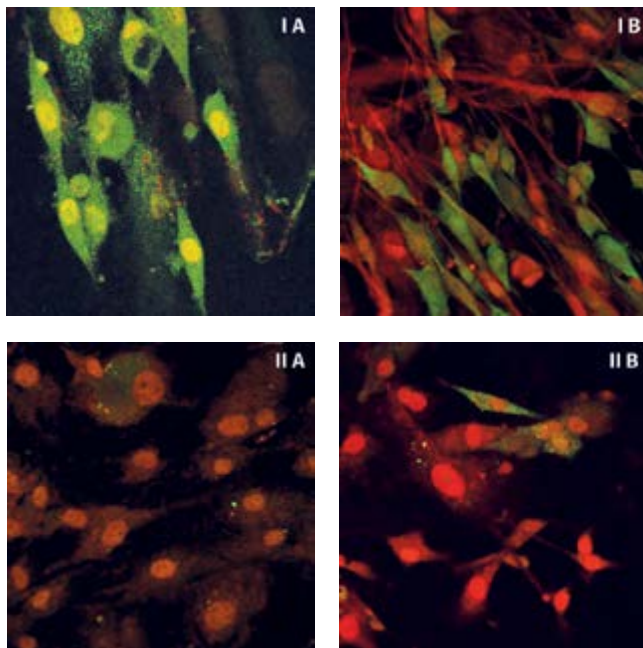


Рис. 2. Экспрессия монокарбоксилатных транспортеров MCT1 (зеленая метка, рис. А) и функционально сопряженного белка CD147 (зеленая метка, рис. В) в клетках церебрального эндотелия (фактор фон Виллебранда, красная метка) крыс в контрольной группе (рис. 1) и при действии агониста GPR81 лактатных рецепторов (3-Cl-5OH-BA, 50 мкМ, 24 часа, рис. II) *in vitro*. Увеличение $\times 90$

Fig. 2. Expression of monocarboxylate transporters MCT1 (green tag, Fig. A) and functionally conjugated protein CD147 (green tag, Fig. B) in rat cerebral endothelial cells (von Willebrand factor, red tag) in the control group (Fig. 1) and under the action of lactate receptor agonist GPR81 (3-Cl-5OH-BA, 50 μ m, 24 h, fig. 2) *in vitro*. Magnification $\times 90$

при высоком уровне глутамат-индуцированной продукции и секреции лактата астроцитами в участках высокой нейрональной активности или нейровоспаления. Известно, что аккумуляция лактата во внеклеточном пространстве запускает механизм глиоваскулярного контроля, обеспечивающего интенсивный кровоток в активных регионах мозга [21]. В таком случае длительная стимуляция GPR81 рецепторов на эндотелиоцитах, входящих в состав ГЭБ, важна для ограничения альтернативного механизма доставки лактата из крови в ткань головного мозга. Происходящая при этом интенсификация митохондриального биогенеза естественным образом сопрягается с подавлением гликолиза в этих клетках, что в совокупности с описанным выше механизмом может ограничивать аккумуляцию лактата в периваскулярном пространстве. С учетом особенностей функционирования примененной в нашей работе модели, перспективным является изучение эффектов агониста GPR81 рецепторов в мультиклеточной модели ГЭБ *in vitro* с участием клеток астроглиальной и нейрональной природы.

Список литературы

1. Morgun A.V., Kuvacheva N.V., Khilazheva E.D. et al. Технологии изучения и моделирования гематоэнцефалического барьера. В кн.: Пирадов М.А., Иллариошкина С.Н., Танашян М.М. (ред.) Неврология XXI века: диагностические, лечебные и исследовательские технологии. Москва, АТМО. 2015. Т. 3: С. 134–166.
2. Salmina A.B., Kuvacheva N.V., Morgun A.V. et al. Glycolysis-mediated control of blood-brain barrier development and function. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2015; 64: 174–84. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.04.005. PMID: 25900038.
3. De Bock K., Georgiadou M., Carmeliet P. Role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting. *Cell Metab.* 2013; 18: 634–47. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.08.001. PMID: 23973331.
4. Mugoni V., Postel R., Catanzaro V. et al. Ubiad1 is an antioxidant enzyme that regulates eNOS activity by CoQ10 synthesis. *Cell* 2013; 152: 504–18. DOI: 10.1016/j.cell.2013.01.013. PMID: 23374346.
5. Verdegem D., Moens S., Stapor P., Carmeliet P. Endothelial cell metabolism: parallels and divergences with cancer cell metabolism. *Cancer Metab.* 2014; 2: 19. DOI: 10.1186/2049-3002-2-19. PMID: 25250177.
6. Figley C.R. Lactate transport and metabolism in the human brain: implications for the astrocyte-neuron lactate shuttle hypothesis. *J. Neurosci.* 2011; 31: 4768–70. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6612-10.2011. PMID: 21451014.
7. Pavlides S., Whitaker-Menezes D., Castello-Cros R. et al. The reverse Warburg effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. *Cell Cycle* 2009; 8: 3984–4001. DOI: 10.4161/cc.8.23.10238. PMID: 19923890.
8. Jornayvaz F.R., Shulman G.I. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays Biochem.* 2010; 47: 69–84. DOI: 10.1042/bse0470069. PMID: 20533901.
9. Lin X.W., Tang L., Yang J., Xu W.H. HIF-1 regulates insect lifespan extension by inhibiting c-Myc-TFAM signaling and mitochondrial biogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 2016; 1863: 2594–2603. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.07.007. PMID: 27469241.
10. Pérez-Escuredo J., Van Hée V.F., Sboarina M. et al. Monocarboxylate transporters in the brain and in cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 2016; 1863: 2481–97. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.03.013. PMID: 26993058.
11. Mosienko V., Teschemacher A.G., Kasparov S. Is L-lactate a novel signaling molecule in the brain? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2015; 35: 1069–75. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.77. PMID: 25920953.
12. Bergersen L.H. Lactate transport and signaling in the brain: potential therapeutic targets and roles in body-brain interaction. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2015; 35: 176–85. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.206. PMID: 25425080.
13. Хилажева Е.Д., Бойцова Е.Б., Пожиленкова Е.А. и др. Получение трехклеточной модели нейроваскулярной единицы *in vitro*. *Цитология* 2015; 10: 710–713.
14. Halestrap A.P. The monocarboxylate transporter family—Structure and functional characterization. *IUBMB Life* 2012; 64: 1–9. DOI: 10.1002/iub.573. PMID: 22131303.
15. Uhernik A.L., Tucker C., Smith J.P. Control of MCT1 function in cerebrovascular endothelial cells by intracellular pH. *Brain Res.* 2011; 1376: 10–22. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.12.060. PMID: 21192921.
16. Smith J.P., Uhernik A.L., Li L. et al. Regulation of Mct1 by cAMP-dependent internalization in rat brain endothelial cells. *Brain Res.* 2012; 1480: 1–11. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.08.026. PMID: 22925948.
17. Li S., Nguyen T.T., Bonanno J.A. CD147 required for corneal endothelial

Do сих пор фармакологическая регуляция продукции, транспорта и рецепции лактата рассматривалась преимущественно в контексте подавления опухолевой прогрессии [22]. Вместе с тем в литературе появляются данные о возможном использовании монокарбоксилатных транспортеров MCT1 и рецепторов GPR81 в качестве мишеней для фармакотерапии нейродегенеративных заболеваний, ишемии головного мозга, эпилепсии [10, 12]. Полученные нами данные расширяют спектр возможных приложений действия агонистов (и, потенциально, антагонистов) GPR81 для модуляции межклеточных взаимодействий в нейроваскулярной единице и контроля функциональной активности клеток эндотелия церебральных микрососудов.

**Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare that there is no conflict of interest.**

Источник финансирования – грант Российского научного фонда (№ 14-25-00054).

References

1. Morgun A.V., Kuvacheva N.V., Khilazheva E.D. et al. [Technology study and modeling of the blood-brain barrier] In: [XXI Century Neurology: diagnostic, treatment and research technologies. Eds. Piradov M.A., Illarionovskaya S.N., Tanashyan M.M.]. Moscow. ATMO, 2015. Vol. 3: P. 134–166. (In Russ.).
2. Salmina A.B., Kuvacheva N.V., Morgun A.V. et al. Glycolysis-mediated control of blood-brain barrier development and function. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2015; 64: 174–84. DOI: 10.1016/j.biocel.2015.04.005. PMID: 25900038.
3. De Bock K., Georgiadou M., Carmeliet P. Role of endothelial cell metabolism in vessel sprouting. *Cell Metab.* 2013; 18: 634–47. DOI: 10.1016/j.cmet.2013.08.001. PMID: 23973331.
4. Mugoni V., Postel R., Catanzaro V. et al. Ubiad1 is an antioxidant enzyme that regulates eNOS activity by CoQ10 synthesis. *Cell* 2013; 152: 504–18. DOI: 10.1016/j.cell.2013.01.013. PMID: 23374346.
5. Verdegem D., Moens S., Stapor P., Carmeliet P. Endothelial cell metabolism: parallels and divergences with cancer cell metabolism. *Cancer Metab.* 2014; 2: 19. DOI: 10.1186/2049-3002-2-19. PMID: 25250177.
6. Figley C.R. Lactate transport and metabolism in the human brain: implications for the astrocyte-neuron lactate shuttle hypothesis. *J. Neurosci.* 2011; 31: 4768–70. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6612-10.2011. PMID: 21451014.
7. Pavlides S., Whitaker-Menezes D., Castello-Cros R. et al. The reverse Warburg effect: aerobic glycolysis in cancer associated fibroblasts and the tumor stroma. *Cell Cycle* 2009; 8: 3984–4001. DOI: 10.4161/cc.8.23.10238. PMID: 19923890.
8. Jornayvaz F.R., Shulman G.I. Regulation of mitochondrial biogenesis. *Essays Biochem.* 2010; 47: 69–84. DOI: 10.1042/bse0470069. PMID: 20533901.
9. Lin X.W., Tang L., Yang J., Xu W.H. HIF-1 regulates insect lifespan extension by inhibiting c-Myc-TFAM signaling and mitochondrial biogenesis. *Biochim. Biophys. Acta* 2016; 1863: 2594–2603. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.07.007. PMID: 27469241.
10. Pérez-Escuredo J., Van Hée V.F., Sboarina M. et al. Monocarboxylate transporters in the brain and in cancer. *Biochim. Biophys. Acta* 2016; 1863: 2481–97. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2016.03.013. PMID: 26993058.
11. Mosienko V., Teschemacher A.G., Kasparov S. Is L-lactate a novel signaling molecule in the brain? *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2015; 35: 1069–75. DOI: 10.1038/jcbfm.2015.77. PMID: 25920953.
12. Bergersen L.H. Lactate transport and signaling in the brain: potential therapeutic targets and roles in body-brain interaction. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 2015; 35: 176–85. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.206. PMID: 25425080.
13. Khilazheva E.D., Boytsova E.B., Pozhilenkova E.A. et al. [The model of neurovascular unit in vitro consisting of three cells types]. *Tsitologiya [Cytology]* 2015; 10: 710–713. (In Russ.).
14. Halestrap A.P. The monocarboxylate transporter family—Structure and functional characterization. *IUBMB Life* 2012; 64: 1–9. DOI: 10.1002/iub.573. PMID: 22131303.
15. Uhernik A.L., Tucker C., Smith J.P. Control of MCT1 function in cerebrovascular endothelial cells by intracellular pH. *Brain Res.* 2011; 1376: 10–22. DOI: 10.1016/j.brainres.2010.12.060. PMID: 21192921.
16. Smith J.P., Uhernik A.L., Li L. et al. Regulation of Mct1 by cAMP-dependent internalization in rat brain endothelial cells. *Brain Res.* 2012; 1480: 1–11. DOI: 10.1016/j.brainres.2012.08.026. PMID: 22925948.
17. Li S., Nguyen T.T., Bonanno J.A. CD147 required for corneal endothelial

lactate transport. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014; 55: 4673–81. DOI: 10.1167/iops.14-14386. PMID: 24970254.

18. Sameshima T., Nabeshima K., Toole B.P. et al. Correlation of emmprin expression in vascular endothelial cells with blood-brain-barrier function: a study using magnetic resonance imaging enhanced by Gd-DTPA and immunohistochemistry in brain tumors. *Virchows Arch.* 2003; 442: 577–84. DOI: 10.1007/s00428-003-0801-7. PMID: 12719975.

19. Dang B., Li H., Xu X. et al. Cyclophilin A/Cluster of differentiation 147 interactions participate in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats. *Crit. Care Med.* 2015; 43:e369-81. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001146. PMID: 26132882.

20. Schmidt M.M., Dringen R. Differential effects of iodoacetamide and iodoacetate on glycolysis and glutathione metabolism of cultured astrocytes. *Front. Neuroenergetics* 2009; 1: 1. DOI: 10.3389/neuro.14.001.2009. PMID: 19584905.

21. LeMaistre J.L., Anderson C.M. Custom astrocyte-mediated vasomotor responses to neuronal energy demand. *Genome Biol.* 2009; 10:209. DOI: 10.1186/gb-2009-10-2-209. PMID: 19232077.

22. Roland C.L., Arumugam T., Deng D. et al. Cell surface lactate receptor GPR81 is crucial for cancer cell survival. *Cancer Res.* 2014; 74: 5301–10. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0319. PMID: 24928781.

lactate transport. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014; 55: 4673–81. DOI: 10.1167/iops.14-14386. PMID: 24970254.

18. Sameshima T., Nabeshima K., Toole B.P. et al. Correlation of emmprin expression in vascular endothelial cells with blood-brain-barrier function: a study using magnetic resonance imaging enhanced by Gd-DTPA and immunohistochemistry in brain tumors. *Virchows Arch.* 2003; 442: 577–84. DOI: 10.1007/s00428-003-0801-7. PMID: 12719975.

19. Dang B., Li H., Xu X. et al. Cyclophilin A/Cluster of differentiation 147 interactions participate in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats. *Crit. Care Med.* 2015; 43: e369-81. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001146. PMID: 26132882.

20. Schmidt M.M., Dringen R. Differential effects of iodoacetamide and iodoacetate on glycolysis and glutathione metabolism of cultured astrocytes. *Front. Neuroenergetics* 2009; 1: 1. DOI: 10.3389/neuro.14.001.2009. PMID: 19584905.

21. LeMaistre J.L., Anderson C.M. Custom astrocyte-mediated vasomotor responses to neuronal energy demand. *Genome Biol.* 2009; 10: 209. DOI: 10.1186/gb-2009-10-2-209. PMID: 19232077.

22. Roland C.L., Arumugam T., Deng D. et al. Cell surface lactate receptor GPR81 is crucial for cancer cell survival. *Cancer Res.* 2014; 74: 5301–10. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-14-0319. PMID: 24928781.

Информация об авторах: Салмина Алла Борисовна – докт. мед. наук, проф., зав. каф. биологич. химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, рук. НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО КрасГМУ МЗ РФ. Россия, 660022, г. Красноярск, ул. П. Железняка, д. 1. Тел.: +7 (391) 228-07-69, факс: +7 (391) 228 08 60, e-mail: allasalmina@mail.ru;

Хилажева Е.Д. – науч. сотр. НИИ молекулярной медицины и патобиохимии, ст. преп. каф. биологич. химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО КрасГМУ МЗ РФ;

Писарева Н.В. – доц. каф. биологич. химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, науч. сотр. НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО КрасГМУ МЗ РФ;

Моргун А.В. – асс. каф. педиатрии Института последипломного образования ФГБОУ ВО КрасГМУ МЗ РФ;

Бойцова Е.Б. – асп. каф. биологич. химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии, науч. сотр. НИИ молекулярной медицины и патобиохимии ФГБОУ ВО КрасГМУ МЗ РФ;

Таранушенко Т.Е. – зав. каф. педиатрии Института последипломного образования ФГБОУ ВО КрасГМУ МЗ РФ;

Фролова О.В. – ст. препод. каф. биологич. химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии ФГБОУ ВО КрасГМУ МЗ РФ.

Information about the authors: Alla B. Salmina, D. Sci (Med.), Prof., Head of the Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, V.F. Voino-Yasenetskii Krasnoyarsk State Medical University, Russia, 660022, Krasnoyarsk, ul. P. Zheleznyaka, 1. Tel. +7 (391) 228-07-69, e-mail: allasalmina@mail.ru;

Elena D. Khilazheva, Researcher, Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, V.F. Voino-Yasenetskii Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

Natalya V. Pisareva, PhD, Associate Professor, Researcher, Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, V.F. Voino-Yasenetskii Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

Andrey V. Morgun, PhD, Teaching Assistant, V.F. Voino-Yasenetskii Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

Elizaveta B. Boitsova, PhD Student, Researcher, Research Institute of Molecular Medicine and Pathobiochemistry, V.F. Voino-Yasenetskii Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

Tatyana E. Taranushenko, D. Sci (Med.), Prof., Head of Department, V.F. Voino-Yasenetskii Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia;

Olga V. Frolova, V.F. Voino-Yasenetskii Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia.

Для цитирования: Хилажева Е.Д., Писарева Н.В., Моргун А.В. и соавт. Активация лактатных рецепторов GPR81 стимулирует митохондриальный биогенез в клетках эндотелия церебральных микрососудов. *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* 2017; 11(1): 34-39.

For citation: Khilazheva E.D., Pisareva N.V., Morgun A.V. et al. [Activation of GPR81 lactate receptors stimulates mitochondrial biogenesis in cerebral microvessel endothelial cells]. *Annals of Clinical and Experimental Neurology.* 2017; 11(1): 34-39. (In Russ.)