

DOI: 10.7868/S2658655X26040052  
УДК 611.81

Экспериментальная статья

## **Влияние астаксантина на нейровоспаление в гиппокампе стареющих мышей при высокожировой диете**

**Е.В. Федорова<sup>1,\*</sup>, Д.А. Федоров<sup>1</sup>, И.Ю. Черноморец<sup>1</sup>,  
А.С. Галашин<sup>1</sup>, В.И. Архипов<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Пушино, Московская область, Российская Федерация  
\*E-mail: pershina-ev@mail.ru*

*Аннотация.* Поиск нейропротекторных стратегий, направленных на коррекцию связанных с диетой и старением нарушений функций гиппокампа, обладают высокой актуальностью в связи с ростом распространенности «западного» типа питания и глобальным старением населения. В работе изучено влияние длительной высокожировой диеты (ВЖД) и антиоксиданта астаксантина (АСТ) на состояние гиппокампа в процессе старения мышей. Показано, что старение сопровождалось нарушением долговременной памяти и развитием хронического нейровоспаления в гиппокампе. При этом ВЖД оказывала умеренное влияние на гиппокампальные изменения по сравнению с животными на стандартной диете (СД). Возрастная динамика активности микроглии, оцененная по Iba1-иммуреактивности, характеризовалась ее увеличением в областях СА (cognu ammonis) полей 1, 3 (СА1, СА3) и зубчатой фасции гиппокампа к 12 месяцам с последующим снижением к 15 месяцам. Введение в рацион АСТ привело к улучшению выполнения реакции пассивного избегания и оказывало дозозависимый по длительности эффект: применение АСТ в течение менее 6 месяцев способствовало подавлению провоспалительной активности, о чем свидетельствовало снижение экспрессии NF- $\kappa$ B. Однако более длительное непрерывное применение АСТ, напротив, приводило к повышению уровня NF- $\kappa$ B в гиппокампе. Полученные данные свидетельствуют о неоднозначном влиянии ВЖД на головной мозг и подчеркивают важность оптимизации сроков применения антиоксидантов для защиты гиппокампа от нейровоспаления.

*Ключевые слова:* старение, высокожировая диета, астаксантин, гиппокамп, нейровоспаление, микроглия, NF- $\kappa$ B

*Финансирование.* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-25-00470.

*Соблюдение этических стандартов.* Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям Комиссии по биоэтике и этике научных исследований

Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН (протокол № 7/2024 от 18 марта 2024 г.).

*Конфликт интересов.* Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

*Вклад авторов в публикацию.* ФЕВ, ФДА, АВИ – концепция; ФЕВ – планирование работы; ГАС, ЧИЮ – обеспечение особого диетарного режима животных и контроль массы тела; ФЕВ, ЧИЮ, ГАС – поведенческие исследования; ФЕВ, ЧИЮ, ФДА – иммуногистохимические эксперименты; ФДА – микроскопические исследования и анализ изображений; ЧИЮ, ФЕВ – ОТ-ПЦР в реальном времени; ФЕВ, ФДА, ЧИЮ – обработка результатов; ФЕВ, АВИ – написание и редактирование манускрипта; ФЕВ, ФДА, ЧИЮ, ГАС, АВИ – утверждение финального варианта статьи для публикации.

*Благодарности.* Авторы благодарят Региональный пушинский центр коллективного пользования «Структурно-функциональные исследования биосистем» Института теоретической и экспериментальной биофизики РАН.

*Ссылка для цитирования:* Федорова Е.В., Федоров Д.А., Черноморец И.Ю., Галашин А.С., Архипов В.И. Влияние астаксантина на нейровоспаление в гиппокампе стареющих мышей при высокожировой диете. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова / Russian Journal of Physiology*. 2026. Т. 112. № 4. С. 905–922. <https://doi.org/10.7868/S2658655X26040052>

DOI: 10.7868/S2658655X26040052

Experimental article

## Effect of Astaxanthin on Hippocampal Neuroinflammation in Aging Mice Fed a High-Fat Diet

E.V. Fedorova<sup>1,\*</sup>, D.A. Fedorov<sup>1</sup>, I.Yu. Chernomorets<sup>1</sup>,  
A.S. Galashin<sup>1</sup>, V.I. Arkhipov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow Region, Russian Federation*

\*E-mail: [pershina-ev@mail.ru](mailto:pershina-ev@mail.ru)

*Abstract.* Research into neuroprotective strategies for correcting diet- and age-related hippocampal dysfunction is highly relevant given the increasing prevalence of the Western diet and the aging population worldwide. This study examined the effects of a long-term high-fat diet (HFD) and the antioxidant astaxanthin (AST) on the hippocampus during aging in mice. Aging was shown to be accompanied by impairment of long-term memory and the development of chronic neuroinflammation in the hippocampus. The HFD had a moderate effect on hippocampal changes compared to animals on a standard diet (SD). Age-related changes in microglial activity, assessed by Iba1 immunoreactivity, were characterized by increased activity of hippocampal regions CA (cornu ammonis) field 1, 3 (CA1, CA3) and dentate gyrus (DG) at 12 months, followed by a decrease at 15 months. Dietary astaxanthin

improved passive avoidance performance and demonstrated a dose-dependent effect: AST administration for less than 6 months suppressed proinflammatory activity, as evidenced by downregulation of NF- $\kappa$ B expression. However, long-term continuous AST administration, conversely, led to upregulation of NF- $\kappa$ B in the hippocampus. These results indicate the bidirectional effects of HFD on the brain and highlight the importance of optimizing the timing of antioxidant administration to protect the hippocampus from neuroinflammation.

*Keywords:* aging, high-fat diet, astaxanthin, hippocampus, neuroinflammation, microglia, NF- $\kappa$ B

*Funding.* This study was supported by grant No. 24-25-00470 from the Russian Science Foundation.

*Ethics declarations.* All procedures performed in studies involving animals complied with the ethical standards established by Russian legislation, the principles of the Basel Declaration, and the recommendations of the Commission on Bioethics and Research Ethics of the Institute of Theoretical and Experimental Biophysics of the Russian Academy of Sciences (Protocol No. 7/2024 dated March 18, 2024).

*Conflict of interests.* The authors declare no obvious or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

*Authors contribution.* FEV, FDA, AVI – concept; FEV – study planning; GAS, ChIYu – animal dietary management and weight control; FEV, ChIYu, GAS – behavioral studies; FEV, ChIYu, FDA – immunohistochemistry experiments; FDA – microscopic examinations and image analysis; ChIYu, FEV – real-time RT-PCR; FEV, FDA, ChIYu – data processing; FEV, AVI – manuscript writing and editing; FEV, FDA, ChIYu, GAS, AVI – approval of the final version of the article for publication.

*Acknowledgements.* The authors thank the Pushchino Center for Collective Use “Structural and Functional Studies of Biosystems” of the Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences.

*For Citation:* Fedorova E.V., Fedorov D.A., Chernomorets I.Yu., Galashin A.S., Arkhipov V.I. Effect of astaxanthin on hippocampal neuroinflammation in aging mice fed a high-fat diet. *Rossiiskij fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2026;112(4):905–922. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S2658655X26040052>

## ВВЕДЕНИЕ

Известно, что как старение, так и потребление высокожировой диеты (ВЖД) независимо друг от друга могут приводить к нарушениям синаптической пластичности, снижению нейрогенеза и усилению нейровоспаления в гиппокампе [1–3]. Нейровоспаление, являясь сложным защитным ответом на повреждающие стимулы, при хроническом течении оказывает повреждающее действие на нейроны. Ведущую роль в этом процессе играют микроглия и астроциты, которые при активации приобретают двойственную функцию – способны как защищать, так и повреждать нервную ткань [4, 5]. Концепция «инфламейджинга» (англ. inflammageing – от «inflammation» воспаление и «ageing» старение) описывает хроническое, слабовыраженное

воспаление, которое развивается с возрастом, и его роль в мозге является важнейшей областью современных исследований в области нейронауки [6–8]. Исследования «инфламеджинга» демонстрируют, что сформировавшаяся в течение жизни воспалительная реакция изначально является физиологическим адаптивным механизмом, однако с возрастом происходит сбой противовоспалительного контроля, и она трансформируется в хронический патологический процесс [6].

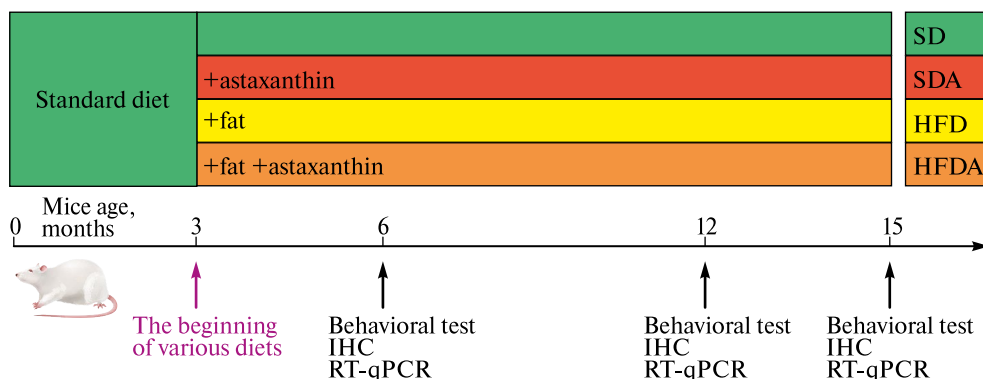
Поиск стратегий, позволяющих нивелировать негативные последствия нерационального питания при старении, представляется важной научной задачей. Перспективным направлением является использование природных соединений с нейропротекторными свойствами. Одним из таких соединений является астаксантин (АСТ; AST, astaxanthin) – природный каротиноид, чья уникальная химическая структура с гидроксид- и кетогруппами определяет его исключительную антиоксидантную активность, а также способность модулировать воспалительные процессы и стабилизировать клеточные мембраны [9, 10]. Согласно данным экспериментальных работ, АСТ модулирует нейровоспаление, подавляя активацию ключевых провоспалительных путей, таких как NF- $\kappa$ B, и активируя систему Nrf2, ответственную за антиоксидантную защиту [11]. Показано, что АСТ способен улучшать когнитивные функции и синаптическую пластичность как у старых животных [12], так и в условиях нейровоспаления, индуцированного липополисахаридом [13]. Однако, несмотря на обнадеживающие данные, остаются невыясненными несколько важных аспектов, требующих уточнения. Во-первых, долгосрочные эффекты продолжительной ВЖД и их динамика на разных стадиях старения остаются недостаточно изученными. В экспериментальных исследованиях выявлены не только ее отрицательные, но и положительные эффекты: ВЖД может эффективно замедлить старение, если не возникают нарушения обмена веществ [14]. Неясно, как именно продолжительность воздействия ВЖД модулирует степень и характер повреждений гиппокампа и связанных с ними поведенческих нарушений по мере старения организма. Во-вторых, и это представляет собой ключевую пробел в знаниях, не изучалось влияние длительного (до 12 месяцев) потребления АСТ как при стандартной диете, так и при ВЖД на специфические маркеры гиппокампальных нарушений. В частности, совершенно не исследовано его потенциальное воздействие на такие важные патоморфологические феномены, как функциональное состояние и морфология микроглии, являющиеся центральными регуляторами нейровоспалительного процесса.

Цель настоящего исследования – оценить влияние ВЖД различной продолжительности (до 12 месяцев) на возраст-зависимые изменения в гиппокампе и поведение мышей, а также изучить потенциальное корригирующее действие длительного применения АСТ совместно с ВЖД.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Животные*

Все эксперименты были проведены на самцах мышей линии SHK. Мыши получали стандартный гранулированный комбикорм для лабораторных крыс и мышей «Дельта Фидс» (Новосибирск, Россия; 3000 ккал/кг, содержание белка 23,9%) и воду без ограничений. По достижении 3-месячного возраста животных случайным образом поделили на четыре подгруппы ( $n = 30$  в каждой), которым установили особый режим питания (рис. 1).



**Рис. 1.** Дизайн эксперимента. SD – подгруппа мышей, в рационе которых был стандартный гранулированный корм (зеленые столбцы); SDA – подгруппа мышей, в рационе которых был стандартный гранулированный корм и АСТ в дозе 10 мг/кг в сутки на каждое животное (красные столбцы); HFD – подгруппа мышей, в рационе которых был стандартный гранулированный корм с добавлением 1 г свиного сала в сутки на одно животное (желтые столбцы); HFDA – подгруппа мышей, в рационе которых был стандартный гранулированный корм с добавлением 1 г свиного сала и АСТ 10 мг/кг в сутки на одно животное (оранжевые столбцы)

**Fig. 1.** Experiment design. SD – subgroup of mice fed a standard pelleted diet (green bars); SDA – subgroup of mice fed a standard pelleted diet and AST at a dose of 10 mg/kg/day per animal (red bars); HFD – subgroup of mice fed a standard pelleted diet supplemented with 1 g of lard per animal per day (yellow bars); HFDA – subgroup of mice fed a standard pelleted diet supplemented with 1 g of lard and AST at a dose of 10 mg/kg/day per animal (orange bars)

АСТ каждому животному в подгруппах SDA и HFDA давали в виде агарозного блока, содержащего 0,4 мг астаксантина (Biogods, Китай), а для подгрупп SD и HFD – агарозный блок без АСТ. Агарозные блоки готовили с помощью заливки в силиконовые формы 450 мкл нагретого 2%-ного водного раствора агар-агара (ООО «АГАТ-МЕД», Германия) с добавлением 20 мкл оливкового масла.

После исследования поведения у животных в возрасте 6, 12 и 15 месяцев извлекали мозг для дальнейших гистологических и молекулярно-биологических исследований. В каждой подгруппе было по 7 животных.

#### *Тест реакции пассивного избегания*

Чтобы охарактеризовать долговременную память у мышей разного возраста проводили тест в аппаратно-программном комплексе «Шелтер» («Нейроботикс», Москва, <http://rat-house.ru/shelter>). Комплекс состоял из светлого и темного отсеков с сетчатым полом; отсеки разделялись непрозрачной стенкой с норовидным отверстием. В первый день животных помещали в освещенный отсек и оставляли на 5 мин, в течение которых у них была возможность исследовать светлый и темный отсеки комплекса. На второй день мышей помещали в освещенный отсек и фиксировали латентный период перехода животного в темный отсек. Когда животное заходило в темный отсек, на решетчатый пол подавали электрический ток силой 0,3 мА длительностью 2 с. После этого сеанса животных возвращали в домашнюю клетку. Через 7 дней проводили тест на сохранение памяти: животных помещали



предварительно полученную реакцией обратной транскрипции), готовую смесь для ПЦР в реальном времени qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия), предварительно синтезированные праймеры («Евроген», Россия). После завершения амплификации во всех случаях качество и молекулярную массу ПЦР-продуктов оценивали электрофоретически в 3%-ном агарозном геле. Все эксперименты с ОТ-ПЦР проводили как минимум в трех биологических и трех статистических повторах. Расчет относительного количества синтезированных ампликонов проводили по методу [16]. Специфику продуктов ОТ-ПЦР оценивали электрофоретически по их молекулярной массе с помощью маркера DNA Ladder 50+bp («Евроген», Россия).

#### *Статистические методы*

Данные представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка среднего (*SEM*). Статистические тесты и графики были выполнены с помощью программы GraphPad Prism 9 (США). Распределение выборок проверяли на нормальность с помощью критерия Шапиро–Уилка. Достоверность различия между группами проверяли с помощью двухфакторного (2-way ANOVA) дисперсионного анализа с последующим тестом Шидака или трехфакторного (3-way ANOVA) дисперсионного анализа, затем критерия множественных сравнений Тьюки.

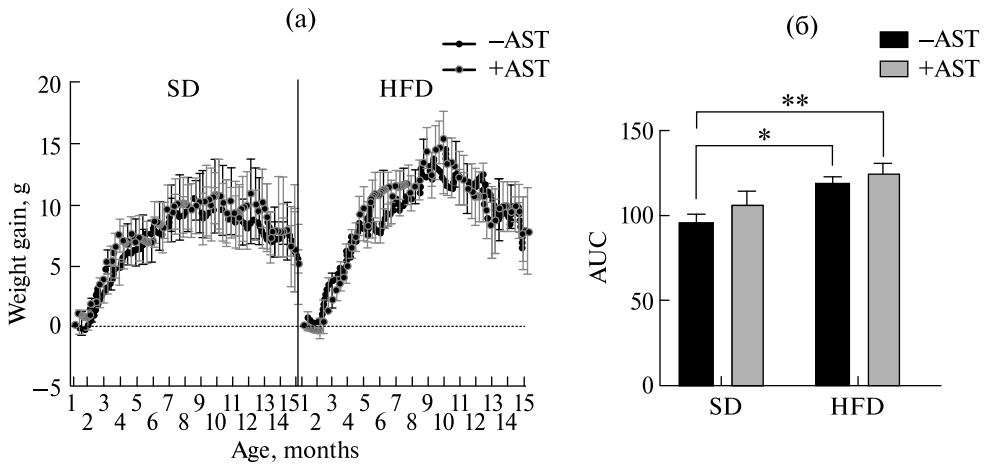
### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Из 30 животных каждой подгруппы из анализа были исключены вследствие их гибели мыши: из Гр. SD – 3 шт., Гр. SDA – 5 шт., Гр. HFD – 7 шт., Гр. HFDA – 9 шт. животных. Результаты еженедельного измерения массы животных показали, что привес мышей во всех группах возрастал до 10–12 месяцев, а затем снижался (рис. 2а).

После начала диеты привес животных в группах HFD и HFDA постепенно увеличивался и к 9-месячному возрасту стал больше, чем в группах SD и SDA. Анализ площадей под кривой привеса выявил увеличение площади для группы HFD и группы HFDA по сравнению с группой SD, что отражает специфический физиологический ответ на длительное воздействие ВЖД. Так, двухфакторный дисперсионный анализ показал значимый эффект ВЖД ( $F_{1,24} = 14,01; p = 0,001$ ), а проведенный апостериорный тест Шидака выявил различия между значениями площади под кривой в группах HFD ( $p = 0,04$ ) и HFDA ( $p = 0,0074$ ) по сравнению с группой SD.

#### *Тест пассивного избегания*

Трехфакторный дисперсионный анализ результатов тестирования долговременной памяти выявил, что наиболее выраженные эффекты оказывают фактор возраста ( $F_{2,72} = 12,95; p < 0,0001$ ) и сочетанное действие возраста и применения АСТ ( $F_{2,72} = 3,156; p = 0,0486$ ), в то время как диета не влияет на исследуемый показатель. Действительно, в отличие от мышей в возрасте 6 месяцев, часть 15-месячных животных показали более низкое значение латентного периода захода в темный отсек. Наиболее выраженное нарушение долговременной памяти было выявлено у животных Гр. SD-15 и Гр. HFD-15 (рис. 3). Введение в диету АСТ способствовало сохранению памяти у животных при старении, и латентный период у мышей Гр. SDA-15 не отличался от этого показателя у мышей Гр. SDA-6, а в Гр. HFDA-15 от Гр. HFDA-6 (рис. 3).



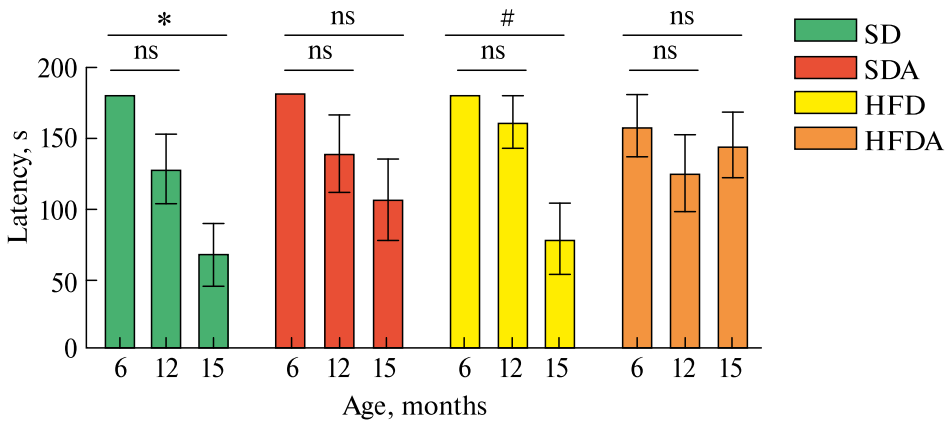
**Рис. 2.** Анализ привеса животных с разным режимом питания. (а) – общая динамика привеса мышей. Панель слева (SD): кривая привеса животных на стандартной диете без добавления АСТ (–AST) отображена черным цветом, характерна для мышей Gr. SD; кривая привеса животных на стандартной диете с добавлением АСТ (+AST) отображена черным цветом с серыми кружками, характерна для мышей Gr. SDA; панель справа (HFD): кривая привеса животных при без добавления АСТ (–AST) отображена черным цветом, характерна для мышей Gr. HFD; кривая привеса животных на ВЖД с добавлением АСТ (+AST) отображена черным цветом с серыми кружками, характерна для мышей Gr. HFDA. (б) – график площадей под кривыми (AUC) для животных на стандартной диете и ВЖД с добавлением в рацион АСТ (серые столбцы) или без его добавления (черные столбцы)

**Fig. 2.** Analysis of the weight gain of animals with different feeding regimes. (a) – general dynamics of the weight gain of mice: panel on the left (SD) shows the weight gain curve of animals on a standard diet without astaxanthin addition (–AST) in black, which is characteristic of Group SD mice; the weight gain curve of animals on a standard diet with astaxanthin addition (+AST) is shown in black with gray circles, which is characteristic of Group SDA mice; panel on the right (HFD) shows the weight gain curve of animals on a high-fat diet without astaxanthin addition (–AST) in black, which is characteristic of Gr. HFD mice; the weight gain curve of animals on a high-fat diet with astaxanthin addition (+AST) is shown in black with gray circles, which is characteristic of Gr. HFDA mice. (b) – graph of areas under the curves (AUC) for animals on a standard diet and a high-fat diet with astaxanthin added to the diet (gray columns) or without added (black columns)

### *Иммуногистохимический анализ*

Морфометрический анализ NeuN иммунореактивности в областях гиппокампа СА (cornu ammonis) полей 1, 3 (CA1, CA3) и зубчатой фасции (ЗФ; DG,) не выявил различий между исследуемыми группами в плотности нейронов. Результат анализа Iba1-позитивного мечения срезов гиппокампа указывает на увеличение активности микроглии к 12-месячному и ее понижение к 15-месячному возрасту мышей, что наиболее выражено в полях гиппокампа CA1 и CA3 при ВЖД (рис. 4б, г).

Введение в рацион животных АСТ не оказало значительного влияния на активность микроглии в гиппокампе. Результаты трехфакторного дисперсионного анализа позволяют сделать вывод, что фактор возраста ( $F_{2,24} = 6,968$ ;  $p = 0,0041$ ) является доминирующим фактором активации микроглии.



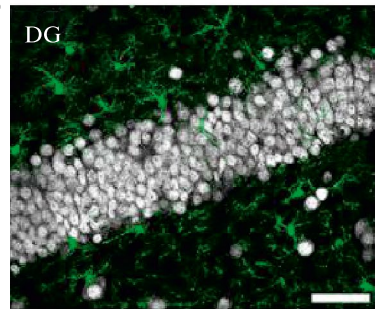
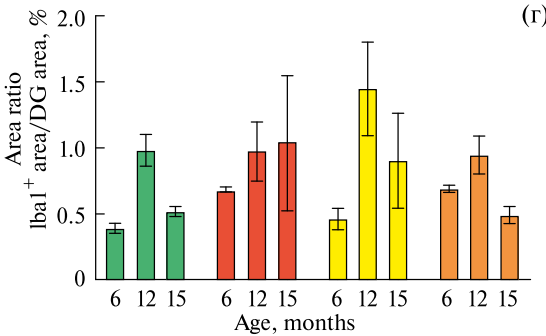
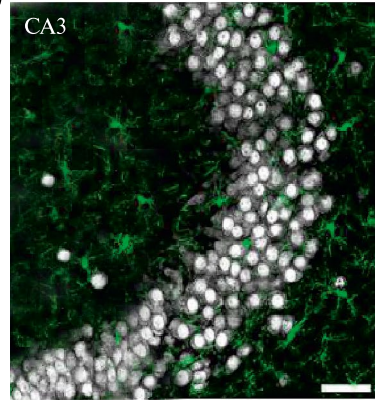
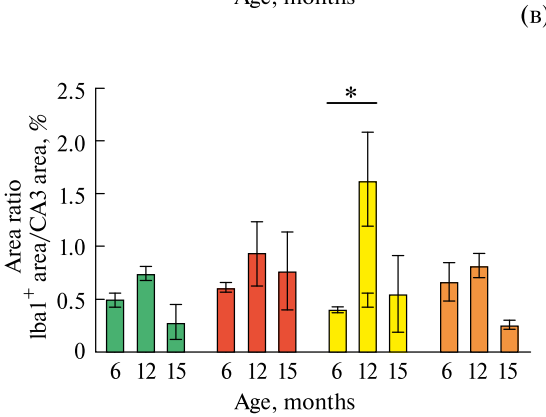
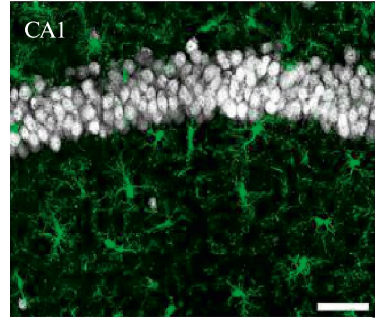
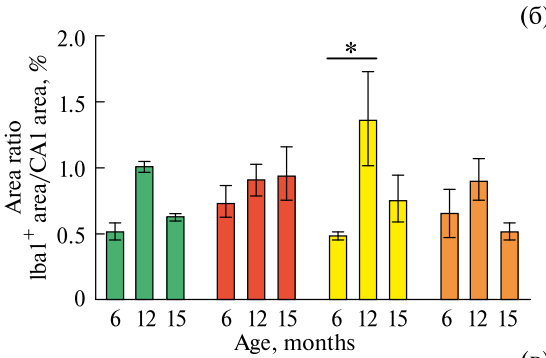
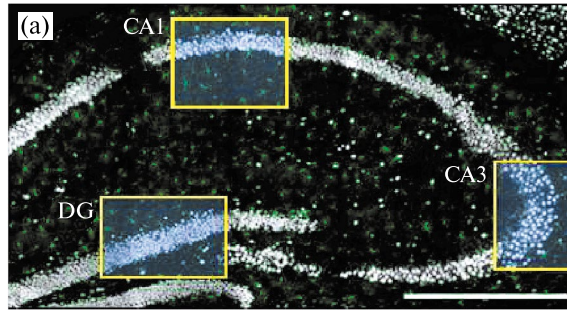
**Рис. 3.** Тест пассивного избегания. Показан латентный период входа в темный отсек через семь дней после обучения ( $n = 7$  для каждой подгруппы). Представлены среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего ( $SEM$ ). Трехфакторный дисперсионный анализ (3-way ANOVA) с использованием теста множественных сравнений Тьюки; \*  $- p = 0,0147$ ; #  $- p = 0,0438$

**Fig. 3.** Passive avoidance test. The latent period of entering the dark compartment is shown seven days after training ( $n = 7$  for each subgroup). The mean value  $\pm$  standard error of the mean ( $SEM$ ) is presented. Three-way analysis of variance (3-way ANOVA) using Tukey's multiple comparison test; \*  $- p = 0.0147$ ; #  $- p = 0.0438$

### Экспрессия генов

Анализ экспрессии гена *Aif1*, кодирующего белок Iba1, показал, что уровень мРНК в гиппокампе мышей значительно повышался в зависимости от возраста (рис. 5а). Это позволяет заключить, что уровень нейровоспаления, ассоциированный с микроглией, в целом гиппокампе повышен у 15-месячных животных, причем повышенный уровень мРНК *Aif1* наблюдался у 15-месячных животных как на стандартной диете (Гр. СД-15), так и на высокожировой диете (Гр. ВЖД-15). Примечательно, что добавление в рацион животных астаксантина препятствовало возраст-зависимому повышению экспрессии *Aif1* в гиппокампе. Это указывает на эффективность действия астаксантина в отношении нейровоспаления в целом гиппокампе, несмотря на то что в отдельных областях они могут быть не столь заметны.

Фактор транскрипции NF- $\kappa$ B является центральным узлом провоспалительной сигнализации. Результаты показали, что экспрессия этого фактора в гиппокампе 12-месячных мышей повышена по сравнению с гиппокампом молодых животных с разными режимами питания, что подтверждает состояние «инфламмейджинга» в гиппокампе животных этого возраста (рис. 5б). Однако у 15-месячных мышей экспрессия гена NF- $\kappa$ B понижается, указывая на фазный характер регуляции экспрессии этого фактора. Что касается эффектов АСТ, он снижает экспрессию NF- $\kappa$ B, если его потребление продолжалось три месяца, но при дальнейшем потреблении влияния АСТ не выявлено как при СД, так и при ВЖД.



## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

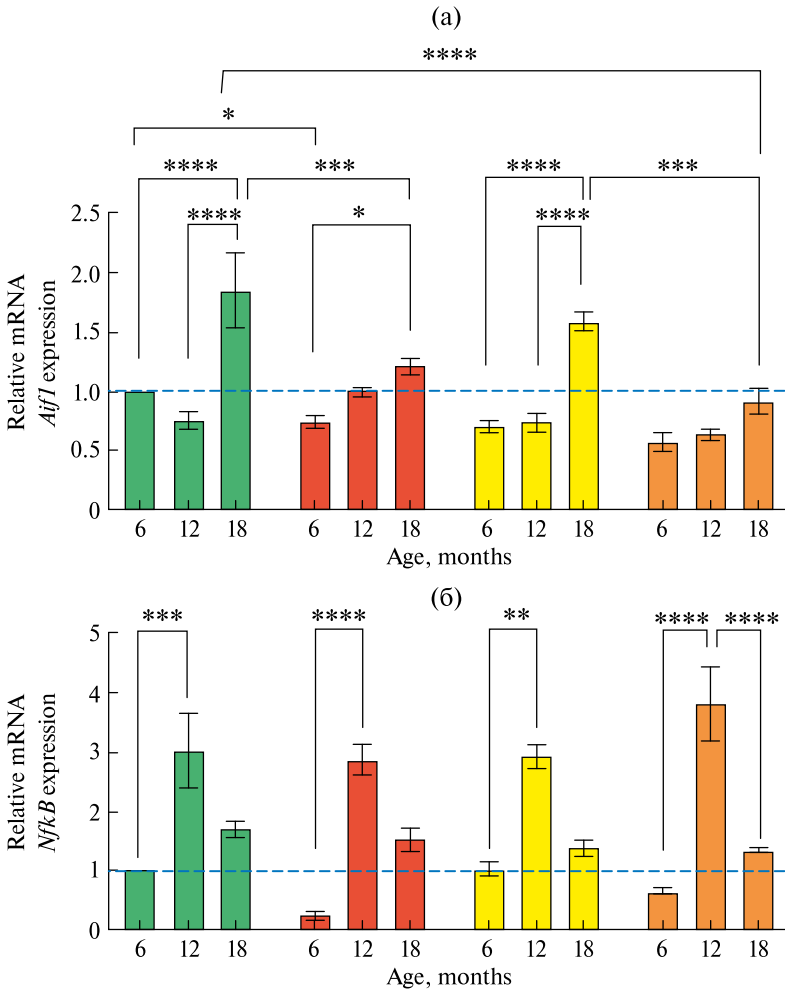
В настоящей работе изучали гиппокампальные изменения у мышей, которые начиная с 3-месячного возраста находились на специальных диетах (СД и ВЖД с добавлением в рацион АСТ в течение длительного времени) до 12 месяцев. Животные на ВЖД получали 45% калорий из свиного сала, и по этому показателю такой рацион питания близок к «западной диете» [17, 18]. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что западная диета является индуктором нейровоспаления и активации микроглии в гиппокампе [19, 20, 21]. Как показало детальное исследование [19], восьмимесячное соблюдение западной диеты привело к активации глиальных клеток у стареющих мышей и на модели болезни Альцгеймера. Это проявлялось резким усилением астроцитоза и активации микроглии в гиппокампе, причем эффект был более выраженным у животных с моделью болезни Альцгеймера. В нашей работе у мышей не наблюдалось столь значительного ожирения, как в исследовании [19], что, вероятно, объясняет менее выраженные признаки нейровоспаления. Следует учитывать, что причинно-следственные связи между ожирением и нейровоспалением сложны. Известно, что насыщенные жирные кислоты способны напрямую активировать микроглию, запуская провоспалительный ответ [22, 23]. Кроме того, активация провоспалительных цитокинов в мозге может происходить уже через несколько недель после начала высокожировой диеты (ВЖД), даже при отсутствии выраженного ожирения [2, 24]

Причем эта провоспалительная сигнализация, «инфламэйджинг», является основным фактором риска большинства нейродегенеративных заболеваний, а хроническое, слабовыраженное нейровоспаление в настоящее время признано важнейшим фактором этого риска [6, 21]. В отличие от острого, саморазрешающегося воспаления, нейровоспаление в стареющем мозге представляет собой

---

**Рис. 4.** Оценка микроглиального окружения нейронов в гиппокампе мышей ( $n = 3$  для каждой подгруппы). (а) – репрезентативные микрофотографии среза гиппокампа с указанием анализируемых областей CA1, CA3 и DG. Белое мечение отражает NeuN-иммунореактивность, зеленое мечение Iba1-иммунореактивность, масштабная линейка 500 мкм. Прямоугольниками отмечены примеры полей зрения для CA1, CA3 и DG, масштабная линейка 50 мкм. (б) – результаты относительной площади Iba1-позитивного окрашивания в области CA1 гиппокампа, в %. Трехфакторный дисперсионный анализ с последующим критерием множественных сравнений Тьюки HFD-6 и HFD-12, \* –  $p = 0,0198$ . (в) – результаты относительной площади IBA1-позитивного окрашивания в области CA3 гиппокампа, в %. Трехфакторный дисперсионный анализ с последующим критерием множественных сравнений Тьюки HFD-6 и HFD-12, \* –  $p = 0,0373$ . (г) – результаты относительной площади IBA1-позитивного окрашивания в области DG гиппокампа, в %

**Fig. 4.** Assessment of microglial environment of neurons in the hippocampus of mice ( $n = 3$  for each subgroup). (a) – representative micrographs of hippocampus slice with indication of analyzed areas CA1, CA3 and DG. White labeling reflects NeuN immunoreactivity, green labeling Iba1 immunoreactivity, scale bar 500  $\mu\text{m}$ . Rectangles indicate examples of fields of view for CA1, CA3, and DG, with a scale bar of 50  $\mu\text{m}$ . (b) – results of the relative area of Iba1-positive staining in the CA1 region of the hippocampus, expressed as a percentage. Three-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test HFD-6 vs HFD-12, \* –  $p = 0.0198$ . (v) – results of the relative area of IBA1-positive staining in the CA3 region of the hippocampus, expressed as a percentage. Three-way ANOVA followed by Tukey's multiple comparisons test HFD-6 vs HFD-12, \* –  $p = 0.0373$ . (r) – the results of the relative area of IBA1-positive staining in the area of the hippocampal DG, %



**Рис. 5.** Относительная экспрессия генов *Aif1* (а) и *NfkB* (б) в гиппокампе мышей, находившихся на стандартной диете (зеленые столбцы), на стандартной диете с добавлением астаксантина (красные столбцы), на высокожировой диете (желтые столбцы) и высокожировой диете с добавлением астаксантина (оранжевые столбцы) в возрасте 6-, 12- и 15-ти месяцев ( $n = 3$  для каждой подгруппы). Данные нормализованы относительно референсного гена (*Actb*). Контрольная группа отражена горизонтальной синей штриховой линией ( $=1$ ). Данные представлены как среднее  $\pm$  SEM. Трехфакторный дисперсионный анализ с последующим множественным сравнением, тест Тьюки; \*  $- p < 0,05$ ; \*\*  $- p < 0,01$ ; \*\*\*  $- p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $- p < 0,0001$

**Fig. 5.** Relative expression of *Aif1* (a) and *NfkB* (б) genes in the hippocampus of mice fed a standard diet (green bars), a standard diet with astaxanthin supplementation (red bars), a high-fat diet (yellow bars), and a high-fat diet with astaxanthin supplementation (orange bars) at 6, 12, and 15 months of age ( $n = 3$  for each subgroup). Data are normalized relative to the reference gene (*Actb*). The control group is represented by the horizontal blue dashed line ( $=1$ ). The data are presented as the mean  $\pm$  SEM. 3-way ANOVA followed by multiple comparisons, Tukey test; \*  $- p < 0.05$ ; \*\*  $- p < 0.01$ ; \*\*\*  $- p < 0.001$ ; \*\*\*\*  $- p < 0.0001$

дезадаптивный процесс, который приводит к самоподдерживающемуся циклу клеточного стресса и функциональным нарушениям.

Наше исследование выявило сложный характер изменений микроглии в гиппокампе мышей в процессе старения. Мы наблюдали увеличение Iba1-позитивного мечения микроглии в гиппокампе в возрасте 12 месяцев по сравнению с 6-месячными животными, а затем снижение к 15 месяцам. Первоначальное увеличение Iba1-позитивного мечения микроглии в возрасте 12 месяцев согласуется с усиленным нейровоспалительным состоянием, когда микроглия приобретает более реактивную морфологию и провоспалительный фенотип, характеризующийся повышенной экспрессией таких маркеров, как ионизированная кальций-связывающая адаптерная молекула 1 (Iba1) [25]. Последующее снижение Iba1-позитивного мечения, которое мы наблюдали к 15 месяцам, сопровождается повышенной экспрессией *Aif1*. Рассогласование содержания белка и уровня мРНК для этого гена может отражать «старение» микроглии, при котором происходит ретракция отростков, снижение фагоцитарной способности микроглии. Таким образом, наши данные о первоначальном повышении и последующем снижении Iba1-позитивного мечения по мере старения мышей могут отражать переход от гиперактивного, провоспалительного состояния к более позднему, дисфункциональному состоянию в стареющем гиппокампе.

Согласно нашим результатам, влияние ВЖД на динамику возраст-зависимого изменения микроглии в гиппокампе можно видеть как по экспрессии *Aif1*, так и по Iba1-позитивному мечению. Мы предполагаем, что сам процесс старения может изменять восприимчивость мозга к диетическим стрессорам, или что определенные экспериментальные параметры являются ключевыми для возникновения нейровоспалительной реакции.

Что касается эффектов АСТ, он оказал заметное влияние на старение животных. Многие экспериментальные работы показали, что АСТ оказывает ряд положительных эффектов на поведение и нервную систему грызунов, что в основном связано с его мощными антиоксидантными и противовоспалительными свойствами [9, 10, 26, 27, 28]. В нашей работе АСТ оказал положительное влияние на когнитивные функции мышей. Долговременная память закономерно ухудшалась с возрастом у мышей как со стандартной диетой, так и с ВЖД. Введение в рацион АСТ привело к улучшению выполнения реакции пассивного избегания у большинства животных, подтверждая способность антиоксиданта улучшать процессы памяти. Действительно, способность АСТ позитивно влиять на когнитивные функции показана, например, при моделировании на мышах повторной церебральной ишемии [27]. АСТ положительно влиял на различные аспекты когнитивных функций человека, в первую очередь на эпизодическую память, время реакции и рабочую память [29]. Несколько обзоров посвящены этим вопросам [10–12, 27, 30]. В нашей работе кроме улучшения долговременной памяти у 15-месячных животных, находящихся на ВЖД, АСТ подавлял нейровоспаление в гиппокампе, что можно видеть по уровню мРНК *Aif1*. У животных, находящихся на СД, применение АСТ сгладило возрастные изменения Iba1-позитивного мечения микроглии. Примечательно, что АСТ при длительном применении не предотвратил активацию микроглии в гиппокампе мышей при СД, но его эффект был более заметен у мышей на ВЖД. Влияние АСТ на состояние микроглии обусловлено несколькими факторами. Он снижает окислительный стресс, ключевой активатор нейровоспаления, напрямую нейтрализуя активные формы кислорода и азота и усиливая эндогенную антиоксидантную

систему защиты мозга, в частности, активируя сигнальный путь Nrf2 [9]. Показано непосредственное влияние АСТ на состояние микроглии, приводящее к ингибированию основных провоспалительных сигнальных путей NF- $\kappa$ B и JNK [31]. Фактор транскрипции NF- $\kappa$ B является центральным узлом клеточной сигнализации, определяющей нейровоспаление [28, 32, 33,]. Ключевыми активаторами пути NF- $\kappa$ B являются уровни активных форм кислорода [33, 34], поэтому антиоксиданты и, в частности, астаксантин за счет снижения окислительного стресса препятствуют активации NF- $\kappa$ B [28, 35]. Полученные в нашей работе результаты показали, что с возрастом его экспрессия в гиппокампе мышей повышается, а введение в диету АСТ действительно способствует понижению экспрессии NF- $\kappa$ B, однако при условии, что длительность потребления АСТ не более 3 месяцев. Дальнейшее включение в рацион АСТ привело к повышению экспрессии NF- $\kappa$ B, что ставит вопрос об оптимальных сроках непрерывного применения антиоксидантов для защиты гиппокампа от негативных последствий ВЖД.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Evans A.K., Saw N.L., Woods C.E. et al. Impact of high-fat diet on cognitive behavior and central and systemic inflammation with aging and sex differences in mice. *Brain Behav. Immun.* 2024;**118**:334–354. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2024.02.025>
2. De Paula G.C., Brunetta H.S., Engel D.F. et al. Hippocampal function is impaired by a short-term high-fat diet in mice: increased Blood-Brain barrier permeability and neuroinflammation as triggering events. *Front. Neurosci.* 2021;**15**:734158. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.734158>
3. Kanoski S.E., Zhang Y., Zheng W., Davidson T.L. The effects of a high-energy diet on hippocampal function and Blood-Brain barrier integrity in the rat. *J. Alzheimers Dis.* 2010;**21**(1):207–219. <https://doi.org/10.3233/jad-2010-091414>
4. Han J., Zhang Z., Zhang P. et al. The roles of microglia and astrocytes in neuroinflammation of Alzheimer's disease. *Front. Neurosci.* 2025;**19**:1575453. <https://doi.org/10.3389/fnins.2025.1575453>
5. Fakorede S., Lateef O.M., Garuba W.A. et al. Dual impact of neuroinflammation on cognitive and motor impairments in Alzheimer's disease. *J. Alzheimers Dis. Rep.* 2025;**9**:25424823251341870. <https://doi.org/10.1177/25424823251341870>
6. Franceschi C., Capri M., Monti D. et al. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. *Mech. Ageing Dev.* 2007;**128**(1):92–105. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.11.016>
7. Baylis D., Bartlett D.B., Patel H.P., Roberts H.C. Understanding how we age: insights into inflammaging. *Longev. Healthspan.* 2013;**2**:8. <https://doi.org/10.1186/2046-2395-2-8>
8. Jurcau M.C., Jurcau A., Cristian A. et al. Inflammaging and brain aging. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;**25**(19):10535. <https://doi.org/10.3390/ijms251910535>
9. Wang S., Qi X. The putative role of astaxanthin in neuroinflammation modulation: mechanisms and therapeutic potential. *Front. Pharmacol.* 2022;**13**:916653. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.916653>

10. Si P., Zhu C. Biological and neurological activities of astaxanthin (Review). *Mol. Med. Rep.* 2022;**26**(4):300. <https://doi.org/10.3892/mmr.2022.12816>
11. Medoro A., Davinelli S., Milella L. et al. Dietary astaxanthin: a promising anti-oxidant and anti-inflammatory agent for brain aging and adult neurogenesis. *Mar. Drugs.* 2023;**21**(12):643. <https://doi.org/10.3390/md21120643>
12. Grimmig B., Hudson C., Moss L. et al. Astaxanthin supplementation modulates cognitive function and synaptic plasticity in young and aged mice. *GeroScience.* 2019;**41**(1):77–87. <https://doi.org/10.1007/s11357-019-00051-9>
13. Han J.H., Lee Y.S., Im J.H. et al. Astaxanthin ameliorates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation, oxidative stress and memory dysfunction through inactivation of the signal transducer and activator of transcription 3 pathway. *Mar. Drugs.* 2019;**17**(2):123. <https://doi.org/10.3390/md17020123>
14. Oike H., Ogawa Y., Azami K. Long-term feeding of a high-fat diet ameliorated age-related phenotypes in SAMP8 mice. *Nutrients.* 2020;**12**(5):1416. <https://doi.org/10.3390/nu12051416>
15. Chomczynski P., Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate–phenol–chloroform extraction: twenty-something years on. *Nat. Protoc.* 2006;**1**(2):581–585. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.83>
16. Schmittgen T.D., Livak K.J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method. *Nat. Protoc.* 2008;**3**(6):1101–1108. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.73>
17. Morrison C.D., Pistell P.J., Ingram D.K. et al. High fat diet increases hippocampal oxidative stress and cognitive impairment in aged mice: implications for decreased Nrf2 signaling. *J. Neurochem.* 2010;**114**(6):1581–1589. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06865.x>
18. Hasegawa Y., Chen S.-Y., Sheng L. et al. Long-term effects of western diet consumption in male and female mice. *Sci. Rep.* 2020;**10**:14686. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71592-9>
19. Graham L.C., Harder J.M., Soto I. et al. Chronic consumption of a western diet induces robust glial activation in aging mice and in a mouse model of Alzheimer’s disease. *Sci. Rep.* 2016;**6**:21568. <https://doi.org/10.1038/srep21568>
20. Lim J.S., Kwak S., Yu M.-H. et al. Western diet-induced visceral adipose tissue inflammation promotes Alzheimer’s disease pathology via microglial activation in a mouse model. *Front. Aging Neurosci.* 2025;**17**:1644988. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2025.1644988>
21. Solch-Ottaiano R.J., Harper C., Prats M. et al. Comparing Mediterranean and western diets: cognitive and microbiota effects in middle-aged rats. *Curr. Dev. Nutr.* 2025;**9**:107543. <https://doi.org/10.1016/j.cdnut.2025.107543>
22. Granholm A.-C., Bimonte-Nelson H.A., Moore A.B. et al. Effects of a saturated fat and high cholesterol diet on memory and hippocampal morphology in the middle-aged rat. *J. Alzheimers Dis.* 2008;**14**(2):133–145. <https://doi.org/10.3233/jad-2008-14202>

23. Valdearcos M., Robblee M.M., Benjamin D.I. et al. Microglia dictate the impact of saturated fat consumption on hypothalamic inflammation and neuronal function. *Cell Rep.* 2014;**9**(6):2124–2138. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2014.11.018>
24. Kim J.D., Yoon N.A., Jin S., Diano S. Microglial UCP2 mediates inflammation and obesity induced by high-fat feeding. *Cell Metab.* 2019;**30**(5):952–962. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.08.010>
25. Carr L., Mustafa S., Collins-Praino L.E. The hallmarks of ageing in microglia. *Cell Mol. Neurobiol.* 2025;**45**:45. <https://doi.org/10.1007/s10571-025-01564-y>
26. Baliotti M., Giannubilo S.R., Giorgetti B. et al. The effect of astaxanthin on the aging rat brain: gender-related differences in modulating inflammation. *J. Sci. Food Agric.* 2016;**96**(2):615–618. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7131>
27. Xue Y., Qu Z., Fu J. et al. The protective effect of astaxanthin on learning and memory deficits and oxidative stress in a mouse model of repeated cerebral ischemia/reperfusion. *Brain Res. Bull.* 2017;**131**:221–228. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.04.019>
28. Feng Y., Chu A., Luo Q. et al. The protective effect of astaxanthin on cognitive function via inhibition of oxidative stress and inflammation in the brains of chronic T2DM rats. *Front. Pharmacol.* 2018;**9**:748. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00748>
29. Queen C.J.J., Sparks S.A., Marchant D.C. et al. The effects of astaxanthin on cognitive function and neurodegeneration in humans: a critical review. *Nutrients.* 2024;**16**(6):826. <https://doi.org/10.3390/nu16060826>
30. Sorrenti V., Davinelli S., Scapagnini G. et al. Astaxanthin as a putative geroprotector: molecular basis and focus on brain aging. *Mar. Drugs.* 2020;**18**(7):351. <https://doi.org/10.3390/md18070351>
31. Wen X., Xiao L., Zhong Z. et al. Astaxanthin acts via LRP-1 to inhibit inflammation and reverse lipopolysaccharide-induced M1/M2 polarization of microglial cells. *Oncotarget.* 2017;**8**(38):69370–69385. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20628>
32. Sivamaruthi B.S., Raghani N., Chorawala M. et al. NF- $\kappa$ B pathway and its inhibitors: a promising frontier in the management of Alzheimer's disease. *Biomedicines.* 2023;**11**(9):2587. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11092587>
33. Lingappan K. NF- $\kappa$ B in oxidative stress. *Curr. Opin. Toxicol.* 2018;**7**:81–86. <https://doi.org/10.1016/j.cotox.2017.11.002>
34. Morgan M.J., Liu Z.-G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B signaling. *Cell Res.* 2011;**21**(1):103–115. <https://doi.org/10.1038/cr.2010.178>
35. Zhang M., Cui Z., Cui H. et al. Astaxanthin protects astrocytes against trauma-induced apoptosis through inhibition of NKCC1 expression via the NF- $\kappa$ B signaling pathway. *BMC Neurosci.* 2017;**18**:42. <https://doi.org/10.1186/s12868-017-0358-z>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Федорова Екатерина Викторовна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр.,  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Пушино, Российская Федерация  
E-mail: pershina-ev@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-3347-3026>

Федоров Дмитрий Андреевич – мл. науч. сотр.,  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Пушино, Российская Федерация  
E-mail: Dmitri.fedorov86@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-3314-4671>

Черноморец Ирина Юрьевна – мл. науч. сотр.,  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Пушино, Российская Федерация  
E-mail: yrgen@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-3921-5418>

Галашин Алексей Сергеевич – мл. науч. сотр.,  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Пушино, Российская Федерация  
E-mail: galashin.alx@gmail.com  
<https://orcid.org/0009-0007-5935-8137>

Архипов Владимир Иванович – д-р биол. наук; гл. науч. сотр.;  
и.о. зав. Лабораторией экспериментальной нейробиологии,  
Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН,  
Пушино, Российская Федерация  
E-mail: viarkhipov@rambler.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-9402-0069>

Поступила в редакцию 18.11.2025  
После доработки 04.12.2025  
Принята к публикации 10.12.2025

ABOUT THE AUTHORS

Fedorova, Ekaterina V. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer,  
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino,  
Russian Federation  
E-mail: pershina-ev@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-3347-3026>

Fedorov, Dmitry A. – Research Assistant, Institute of Theoretical and Experimental Biophysics,  
Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation  
E-mail: Dmitri.fedorov86@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-3314-4671>

Chernomorets, Irina Yu. – Research Assistant, Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation  
E-mail: yrgen@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-3921-5418>

Galashin, Alexey S. – Research Assistant, Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation  
E-mail: galashin.alx@gmail.com  
<https://orcid.org/0009-0007-5935-8137>

Arkipov, Vladimir I. – Ph.D. (Biology); Chief Researcher;  
Acting Head of the Laboratory of Experimental Neurobiology,  
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,  
Pushchino, Russian Federation  
E-mail: viarkhipov@rambler.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-9402-0069>

Received November 18, 2025  
Revised December 04, 2025  
Accepted December 10, 2025